

Docket No.: 20195/0200960-US0
(PATENT)

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:
Meinrad Schienle et al.

Application No.: 10/803,175

Confirmation No.: 4132

Filed: March 16, 2004

Art Unit: N/A

For: FLUORESCENCE BIOSENSOR CHIP AND
FLUORESCENCE BIOSENSOR CHIP
ARRANGEMENT

Examiner: Not Yet Assigned

CLAIM FOR PRIORITY AND SUBMISSION OF DOCUMENTS

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

Applicant hereby claims priority under 35 U.S.C. 119 based on the following prior foreign application filed in the following foreign country on the date indicated:

Country	Application No.	Date
Germany	101 45 701.4	September 17, 2001

In support of this claim, a certified copy of the said original foreign application is filed herewith.

Dated: June 29, 2004

Respectfully submitted,

By Laura C. Brutman

Laura C. Brutman

Registration No.: 38,395
DARBY & DARBY P.C.
P.O. Box 5257
New York, New York 10150-5257
(212) 527-7700
(212) 753-6237 (Fax)
Attorneys/Agents For Applicant

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 101 45 701.4
Anmeldetag: 17. September 2001
Anmelder/Inhaber: Infineon Technologies AG,
81669 München/DE
Bezeichnung: Fluoreszenz-Biosensorchip und Fluoreszenz-
Biosensorchip-Anordnung
IPC: G 01 N, C 12 Q

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 06. Mai 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to read "M. Klostremeyer".

Klostermeyer

Beschreibung**Fluoreszenz-Biosensorchip und Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung**

5

Die Erfindung betrifft einen Fluoreszenz-Biosensorchip und eine Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung.

Die Bio- und Gentechnologie hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Eine Grundtechnik in der Bio- und Gentechnologie ist es, biologische Moleküle wie DNA (Desoxyribonukleinsäure) oder RNA, Proteine, Polypeptide etc. nachweisen zu können. Vor allem Biomoleküle, in denen Erbgutinformation kodiert ist, insbesondere DNA-Moleküle (Desoxyribonukleinsäure) sind für viele medizinische Anwendungen von großem Interesse. Daher erlangen Nachweisverfahren zunehmende Bedeutung bei der industriellen Identifikation und Bewertung von neuen Medikamenten organischer und gentechnologischer Herkunft. Diese Nachweisverfahren eröffnen vielfältige Anwendungen beispielsweise in der medizinischen Diagnostik, in der Pharmaindustrie, in der chemischen Industrie, in der Lebensmittelanalytik sowie in der Umwelt- und Lebensmitteltechnik.

Eine DNA ist eine Doppelhelix, die aus zwei vernetzten wendelförmigen Einzelketten, sog. Halbsträngen, aufgebaut ist. Jeder dieser Halbstränge weist eine Basensequenz auf, wobei mittels der Reihenfolge der Basen (Adenin, Guanin, Thymin, Cytosin) die Erbinformation festgelegt ist. DNA-Halbstränge weisen die charakteristische Eigenschaft auf, sehr spezifisch nur mit ganz bestimmten anderen Molekülen eine Bindung einzugehen. Daher ist es für das Andocken eines Nukleinsäurestrangs an einen anderen Nukleinsäurestrang Voraussetzung, dass die beiden Moleküle zueinander komplementär sind. Anschaulich müssen die beiden Moleküle

zueinander passen wie ein Schlüssel und das dazu passende Schloss (sog. Schlüssel-Schloss-Prinzip).

Dieses von der Natur vorgegebene Prinzip kann zum selektiven

5 Nachweis von Molekülen in einer zu untersuchenden Flüssigkeit verwendet werden. Die Grundidee eines auf diesem Prinzip basierenden Biochip-Sensors besteht darin, dass auf einem Substrat aus einem geeigneten Material zunächst sogenannte Fängermoleküle (z.B. mittels Mikrodispensierung) aufgebracht

10 und immobilisiert werden, d.h. an der Oberfläche des Biochip-Sensors dauerhaft fixiert werden. In diesem Zusammenhang ist es bekannt, Biomoleküle mit Thiol-Gruppen (SH-Gruppen) an Gold-Oberflächen zu immobilisieren.

15 Ein solcher Biochip-Sensor mit einem Substrat und daran gebundenen Fängermolekülen, die beispielsweise auf einen bestimmten nachzuweisenden DNA-Halbstrang sensitiv sind, wird üblicherweise zum Untersuchen einer Flüssigkeit auf das Vorhandensein von zu den Fänger- molekülen komplementären DNA-

20 Halbsträngen verwendet werden. Hierzu ist die auf das Vorhandensein eines bestimmten DNA-Halbstrangs zu untersuchende Flüssigkeit mit dem immobilisierten Fänger- molekülen in Wirkkontakt zu bringen. Sind ein Fänger- molekül und ein zu untersuchender DNA-Halbstrang

25 zueinander komplementär, so hybridisiert der DNA-Halbstrang an dem Fänger- molekül, d.h. er wird daran gebunden. Wenn infolge dieser Bindung sich der Wert einer messtechnisch erfassbaren physikalischen Größe in charakteristischer Weise ändert, so kann der Wert dieser Größe gemessen werden und auf

30 diese Weise das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein eines DNA-Halbstrangs in einer zu untersuchenden Flüssigkeit nachgewiesen werden.

Das beschriebene Prinzip ist nicht auf den Nachweis von DNA-

35 Halbsträngen beschränkt. Vielmehr sind weitere Kombinationen von auf dem Substrat aufgebrachten Fänger- molekülen und zu erfassenden Molekülen in einer zu untersuchenden Flüssigkeit

bekannt. So können beispielsweise Nukleinsäuren als Fängermoleküle für Peptide oder Proteine, die nukleinsäurespezifisch binden, verwendet werden. Weiterhin bekannt ist, Peptide oder Proteine als Fängermoleküle für 5 andere, das Fängerpeptid bzw. das Fängerprotein bindende Proteine oder Peptide zu verwenden. Von Bedeutung ist ferner die Verwendung von niedermolekularen chemischen Verbindungen als Fängermoleküle für an diese niedermolekularen Verbindungen bindende Proteine oder Peptide. Niedermolekulare 10 chemische Verbindungen sind solche chemischen Verbindungen, die weniger als etwa 1.700 Dalton (Molekulargewicht in Gramm pro Mol) aufweisen. Umgekehrt ist auch die Verwendung von Proteinen und Peptiden als Fängermoleküle für eventuell in einer zu untersuchenden Flüssigkeit vorhandene 15 niedermolekulare Verbindungen möglich.

Zum Nachweis der erfolgten Bindung zwischen dem auf dem Substrat aufgebrachten Fängermolekül und dem in der zu untersuchenden Flüssigkeit vorhandenen, zu erfassenden 20 Molekül sind elektronische Nachweisverfahren bekannt. So kann beispielsweise der Wert der Kapazität zwischen zwei Elektroden gemessen werden, an denen Fängermoleküle immobilisiert sind. Hybridisieren nachzuweisende Moleküle mit den Fängermolekülen, so verändert sich der Wert der Kapazität 25 in charakteristischer Weise und das Hybridisierungereignis kann mittels eines elektrischen Signal nachgewiesen werden. Ein derartiger DNA-Sensor ist beispielsweise in [1] beschrieben. Allerdings ist die Nachweisempfindlichkeit solcher elektronischer Nachweismethoden für DNA-Moleküle 30 begrenzt. Auch treten Probleme dergestalt auf, dass empfindliche Biomoleküle (z.B. DNA, Proteine) zersetzt werden können, wenn sie in direkten Kontakt mit freien elektrischen Ladungen an der Oberfläche von Elektroden gelangen. Es ist bekannt, dass viele Proteine außerhalb eines für jedes 35 Protein charakteristischen Bereichs von pH-Werten denaturieren.

Alternativ werden optische Verfahren zum Nachweis der Hybridisierung von nachzuweisenden Molekülen verwendet. Die Detektion eines Hybridisierungsereignisses kann auf optische Weise erfolgen, wenn ein hybridisiertes Molekül einen

5 Fluoreszenzfarbstoff mit der Fähigkeit aufweist, elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung in einem charakteristischen Wellenlängenbereich zu emittieren, nachdem der Fluoreszenzfarbstoff mittels Absorption von Licht eines primären Wellenlängenbereichs angeregt worden ist. Die im

10 Analyten enthaltenen nachzuweisenden Biomoleküle, beispielsweise DNA-Halbstränge, sind hierfür über ein geeignetes Linker-Molekül mit einem Fluoreszenzmarker zu koppeln. Haben die auf diese Weise fluoreszenzmarkierten nachzuweisenden Biomoleküle mit den auf der Sensoroberfläche 15 immobilisierten Fängermolekülen hybridisiert, und wird Licht einer geeigneten Wellenlänge eingestrahlt, das von dem Fluoreszenzmarker absorbierbar ist, so wird das eingestrahlte Licht von den Fluoreszenzmarkern absorbiert und Lichtquanten einer anderen Wellenlänge reemittiert (Resonanzfluoreszenz).

20 Die Intensität des von der Sensoroberfläche reemittierten Fluoreszenz-Lichtes ist dann ein Maß für die Zahl der angedockten nachzuweisenden Moleküle. Das reemittierte Fluoreszenzlicht hat grundsätzlich eine längere Wellenlänge (und niedrigere Energie) als das anregende Primärlicht.

25 Dieser physikalische Effekt macht eine Trennung des Fluoreszenzlichtes vom anregenden Licht mittels Verwendung geeigneter optischer Filter möglich, die wellenlängenabhängig absorbieren, reflektieren bzw. transmittieren. Werden diese Filter geeignet gewählt, um für die Wellenlänge des

30 Primärlichtes undurchlässig zu sein, dagegen aber für die Wellenlänge des reemittierten Lichtes durchlässig zu sein, so ist ein Nachweis des reemittierten Lichtes mittels hinter dem Filter angeordneten Detektoren möglich.

35 Häufig ist die Intensität des nachzuweisenden Fluoreszenzlichtes einige Größenordnungen geringer als die Intensität des anregenden Primärlichtes, was die

messtechnische Erfassung des Fluoreszenzlichtes erschwert und die Nachweisempfindlichkeit des Sensors begrenzt. Ferner soll mittels des Sensors die Intensität des Fluoreszenzlichtes über einen möglichst großen Bereich quantitativ erfassbar sein (hoher Dynamikbereich). Darüber hinaus wird von einer Sensoranordnung eine gute Ortsauflösung verlangt, da häufig die Sensorelemente der Anordnung mit unterschiedlichen Fängermolekülen ausgestattet sind, um simultan unterschiedliche nachzuweisende Moleküle nachweisen zu können. An die Qualität der Optik eines Auslesegerätes sind daher hohe Anforderungen gestellt.

Bei bekannten Auslesegeräten werden typischerweise ein Laserscanner zur Anregung und ein konfokales Mikroskop zum Detektieren des emittierten Lichtes verwendet. In den Detektionsstrahlengang ist ferner ein optisches Kantenfilter eingefügt, das die anregende Wellenlänge unterdrückt ("long wave pass").

In **Fig. 1A** ist ein Fluoreszenz-Biosensorchip 100 gezeigt, der aus [2] bekannt ist. Der Fluoreszenz-Biosensorchip 100 weist auf eine Lichtquelle 101, die Licht 100a eines breiten Wellenlängenbereichs emittiert. Das von der Lichtquelle 101 emittierte Licht 100a tritt durch das Lichtquellenfilter 102 hindurch, wodurch im Wesentlichen monochromatisches Primärlicht auf den Biochip 103 einfällt. Auf dem Biochip 103 ist eine biologische Probe angebracht, wobei die biologischen Moleküle einen Fluoreszenzmarker aufweisen. Die Fluoreszenzmarker der Biomoleküle auf dem Biochip 103 sind derart eingerichtet, dass sie das durch das Lichtquellenfilter 102 transmittierte Licht der Lichtquelle 101 absorbieren. Nach erfolgter Absorption des Lichts reemittieren die Fluoreszenzmarker Licht einer zweiten Wellenlänge, die sich von der Wellenlänge des eintreffenden Lichtes unterscheidet. Das reemittierte Licht ist langwelliger als das Primärlicht 100a (Rotverschiebung). Das von den Fluoreszenzmarkern der Biomoleküle auf den Biochip

103 reemittierte Licht trifft auf die Linse 104, die derart eingerichtet ist, dass sie die einzelnen Lichtsignale ortsrichtig auf die CCD-Sensoreinrichtung 106 abbildet. Bevor das Licht auf die CCD-Sensoreinrichtung 106 trifft, tritt es 5 durch das Sensorfilter 105 hindurch. Das Sensorfilter 105 ist derart eingerichtet, dass es für die Wellenlänge des reemittierten Lichtes durchlässig ist, wohingegen es für die Wellenlänge des Primärlichts undurchlässig ist. Die CCD-Sensoranordnung 106 ("charge coupled device") registriert die 10 Fluoreszenzereignisse auf dem Biochip 103. Allerdings ist die aufgrund der Optik bzw. des komplizierten Messsystems erforderliche Justage des apparativ aufwändigen Fluoreszenz- 15 Biosensorchips 100 kompliziert, woraus eine verbessерungsbedürftige Benutzerfreundlichkeit des Fluoreszenz-Biosensorchips 100 resultiert. Dies ist nachteilhaft. Ferner ist der Fluoreszenz-Biosensorchip 100 teuer, da er teure Einzelkomponenten wie die CCD-Sensoranordnung 106 aufweist.

20 Aus [3], [4] ist ein weiterer Fluoreszenz-Biosensorchip 110 bekannt, der in **Fig. 1B** gezeigt ist. Der Fluoreszenz-Biosensorchip 110 weist eine Lichtquelle 111 auf, die Licht 111a eines primären Wellenlängenbereiches emittiert. Das von der Lichtquelle 111 emittierte Licht 111a tritt zunächst 25 durch ein optisches Element 112 und anschließend durch ein Lichtquellenfilter 113 hindurch. Das Lichtquellenfilter 113 ist derart eingerichtet, dass es nur für elektromagnetische Strahlung einer bestimmten Wellenlänge oder eines bestimmten Wellenlängenbereichs durchlässig ist. Das durch das 30 Lichtquellenfilter 113 transmittierte Licht wird mittels eines optischen Reflektorelements 114 umgelenkt und gelangt dadurch in Kavitäten 116 eines Probenhalters 115, in der die zu untersuchenden biologischen Moleküle angeordnet sind. Hat in einer der Kavitäten 116 ein Hybridisierungsereignis 35 stattgefunden, d.h. haben einen Fluoreszenzmarker aufweisende Moleküle mit den Fängermolekülen in einer der Kavitäten 116 hybridisiert, so können geeignet gewählte Fluoreszenzmarker

das auf die Kavitäten 116 einfallende Licht der Lichtquelle 111 absorbieren und mit einer zu größeren Wellenlängen hin verschobenen Wellenlänge reemittieren. Das Primärlicht und das reemittierte Licht gelangen auf das Sensorfilter 117, das 5 für Licht der Wellenlängen der Fluoreszenz-Strahlung durchlässig ist, wohingegen es für Licht der Wellenlängen des Primärlichts im Wesentlichen undurchlässig ist. Daher gelangt im Idealfall ausschließlich das Fluoreszenzlicht auf die Photodetektoren 118 auf dem Biochip 119. Ein Signal auf den 10 Photodetektoren 118 ist nur dann erfassbar, wenn auf der einem Photodetektor 118 räumlich entsprechenden Kavität ein Hybridisierungsereignis stattgefunden hat. Wie in **Fig. 1B** durch die gepunkteten Linien angedeutet, sind die 15 Einzelkomponenten des Fluoreszenz-Biosensorchips 110 vom Benutzer zusammenbaubar. Zwar ist damit die räumliche Trennung der Bauelemente, die zu einer großen räumlichen Ausdehnung führt, verringert, jedoch weist der Fluoreszenz-Biosensorchip 110 einen geringen Bedienungskomfort auf. Ferner ist der Fluoreszenz-Biosensorchip 110 für viele 20 Anwendungen zu teuer.

Die aus dem Stand der Technik bekannten Fluoreszenz-Biosensorchips weisen einen komplizierten Aufbau und eine komplexe Struktur auf, sind groß und damit teuer. Ferner sind 25 die aus dem Stand der Technik bekannten Fluoreszenz-Biosensorchips teilweise nicht sehr benutzerfreundlich. Aus [5] ist ein weiterer Sensorchip bekannt. Dieser weist eine gemäß dem CMOS-Prozess hergestellte Photodiode und ein integriertes Fabry-Perot-Filter auf. Ein Fabry-Perot-Filter 30 ist aus zwei teildurchlässigen Spiegeln aufgebaut, die in einem definierten Abstand voneinander angeordnet sind, wobei die Innenfläche des ersten Spiegels idealerweise totalreflektierend ist und die Innenfläche des anderen Spiegels eine Reflektivität nur wenig unterhalb von eins 35 aufweist. Tritt einfallendes Licht durch den ersten Spiegel hindurch, so wird das Licht an der Innenfläche des zweiten Spiegels und anschließend an der Innenfläche des ersten

Spiegels, dann wieder an der Innenfläche des zweiten Spiegels usw. vielfach reflektiert, wobei bei jeder Reflektion an der Innenfläche des zweiten Spiegels auch ein geringer Anteil durch den zweiten Spiegel transmittiert wird. Die

5 transmittierten Einzelstrahlen interferieren derart, dass das Fabry-Perot-Interferometer nur für Licht bestimmter Wellenlängen durchlässig ist. Der aus [5] bekannte Biosensor ist allerdings nicht zum Nachweis biologischer Moleküle vorgesehen.

10

Selbiges gilt für eine aus [6] bekannte Sensoranordnung. Aus [6] ist eine Kamera auf der Basis von in einem Substrat integrierten Photodioden bekannt, wobei ein Bildpunkt des von der Kamera aufzuzeichnenden Bildes aus drei Photodioden 15 zusammengesetzt ist, welche drei Photodioden gemäß dem RGB-System mit einem roten, einem grünen und einem blauen Filter bedeckt sind.

20 Der Erfindung liegt das Problem zugrunde, einen weniger aufwändigen und somit kostengünstigeren Fluoreszenz-Biosensorchip zu schaffen.

25 Das Problem wird durch einen Fluoreszenz-Biosensorchip und eine Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung mit den Merkmalen gemäß den unabhängigen Patentansprüchen gelöst.

Ein Fluoreszenz-Biosensorchip weist ein Substrat, mindestens eine in oder auf dem Substrat angeordnete Detektions-Einrichtung zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung, 30 eine auf dem Substrat angeordnete optische Filterschicht und eine auf der optischen Filterschicht angeordnete Immobilisierungs-Schicht zum Immobilisieren von Fängermolekülen auf, wobei die Detektions-Einrichtung, die Filterschicht und die Immobilisierungs-Schicht in dem 35 Fluoreszenz-Biosensorchip integriert sind.

Erfindungsgemäß sind also alle Komponenten des Fluoreszenz-Biosensorchips in dem Fluoreszenz-Biosensorchip integriert. Indem alle Komponenten des Fluoreszenz-Biosensorchips dadurch räumlich sehr eng benachbart sind, hat der Fluoreszenz-

5 Biosensorchip eine sehr geringe Größe. Dadurch ist ein sehr kompakter Fluoreszenz-Biosensorchip bereitgestellt. Die Immobilisierungs-Schicht, die erfindungsgemäß als Sensorebene dient, und die in dem Substrat integrierten Detektions-Einrichtungen, die zum indirekten Nachweis von

10 Hybridisierungseignissen dienen, sind großenordnungsmäßig typischerweise weniger als 100 µm voneinander entfernt angeordnet, was eine gute Ortsauflösung des Fluoreszenz-Biosensorchips zur Folge hat. Auch ist der erfindungsgemäße Fluoreszenz-Biosensorchip derart konzipiert, dass er mit

15 standardisierten CMOS-kompatiblen halbleitertechnologischen Verfahren herstellbar ist. Somit ist die Entwicklung teurer Maschinen zum Herstellen des Fluoreszenz-Biosensorchips entbehrlich, wodurch der Fluoreszenz-Biosensorchip kostengünstig und mit geringem Aufwand herstellbar ist. Auch

20 sind die Einzelkomponenten des Fluoreszenz-Biosensorchips aus kostengünstigen Materialien herstellbar.

Bei dem Fluoreszenz-Biosensorchip der Erfindung ist das Substrat vorzugsweise aus Silizium-Material hergestellt. So kann das Substrat beispielsweise ein Silizium-Wafer sein.

Die mindestens eine Detektions-Einrichtung des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips weist gemäß einem bevorzugten Ausführungsbeispiels mindestens eine

30 Photodiode auf, die derart eingerichtet ist, dass damit elektromagnetische Strahlung eines ersten Wellenlängenbereichs detektierbar ist.

Indem die mindestens eine Detektions-Einrichtung als

35 Photodiode ausgestaltet ist, die in dem Substrat integriert ist, ist ein empfindlicher und kostengünstig herstellbarer Detektor für elektromagnetische Strahlung bereitgestellt.

Vorzugsweise ist die optische Filterschicht derart eingerichtet, dass die optische Filterschicht elektromagnetische Strahlung eines zweiten

5 Wellenlängenbereichs absorbiert und/oder reflektiert, wobei zumindest ein Teil des ersten Wellenlängenbereichs außerhalb des zweiten Wellenlängenbereichs liegt.

Anschaulich ist die optische Filterschicht derart eingerichtet, dass sie denjenigen Teil der auf die Oberfläche der optischen Filterschicht eintreffenden elektromagnetischen Strahlung absorbiert und/oder reflektiert, die von der Photodiode abgeschirmt werden soll, da diese

10 elektromagnetische Strahlung nicht die nachzuweisende 15 Strahlung ist. Indem zumindest ein Teil des ersten Wellenlängenbereichs, in dem die Photodiode auf den Nachweis elektromagnetischer Strahlung sensitiv ist, außerhalb des zweiten Wellenlängenbereichs liegt, ist sichergestellt, dass die von der Photodiode nachzuweisende elektromagnetische

20 Strahlung die optische Filterschicht zumindest teilweise durchdringen kann. Dadurch unterdrückt die Absorptionsschicht die Bestrahlung der Photodioden mit solcher elektromagnetischer Strahlung, die nicht von an der

Immobilisierungs-Schicht hybridisierten nachzuweisenden Molekülen stammt, beispielsweise Streulicht aus der Umgebung oder Primärlicht zum Anregen von Fluoreszenzmarkern von gegebenenfalls an der Immobilisierungs-Schicht hybridisierten nachzuweisenden Molekülen. Mittels einer geeigneten Wahl der optischen Filterschicht kann daher die

30 Nachweisempfindlichkeit des Fluoreszenz-Biosensorchips erhöht werden.

Die optische Filterschicht weist vorzugsweise mindestens ein Bandfilter und/oder mindestens ein Kantenfilter auf.

35

Unter einem Bandfilter wird im weiteren ein optisches Filter verstanden, das im Wesentlichen in einem Wellenlängenbereich

zwischen einer unteren Grenzwellenlänge und einer oberen Grenzwellenlänge für elektromagnetische Strahlung undurchlässig ist, wohingegen der Bandfilter unterhalb der unteren Grenzwellenlänge und oberhalb der oberen

5 Grenzwellenlänge für elektromagnetische Strahlung im Wesentlichen durchlässig ist.

Unter einem Kantenfilter wird im Weiteren ein optisches Filter verstanden, das im Wesentlichen entweder für
10 elektromagnetische Strahlung unterhalb einer Grenzwellenlänge undurchlässig ist und für elektromagnetische Strahlung
oberhalb der Grenzwellenlänge durchlässig ist, oder das für
elektromagnetische Strahlung oberhalb einer Grenzwellenlänge undurchlässig ist und für elektromagnetische Strahlung
15 unterhalb der Grenzwellenlänge durchlässig ist.

Das mindestens eine Bandfilter, das die optische Filterschicht aufweisen kann, kann ein dielektrisches Interferenzfilter mit einer Schichtenfolge aus mindestens
20 zwei Materialien sein, wobei ein erstes Material einen hohen Brechungsindex und ein zweites Material einen niedrigen Brechungsindex aufweist. Das erste Material mit einem hohen Brechungsindex ist vorzugsweise eines der Materialien Titanoxid (TiO_2), Siliziumnitrid (Si_3N_4), Hafniumoxid (HfO_2),
25 Zirkoniumoxid (ZrO_2), Aluminiumoxid (Al_2O_3), Polysilizium (polykristallines Silizium) oder Indium-Zinn-Oxid (ITO). Das erste Material kann aber auch Siliziumdioxid (SiO_2) sein. Ferner kann das erste Material eine beliebige Mischung aus den genannten oder anderen Materialien sein, derart, dass das
30 erste Material einen geeigneten Brechungsindex aufweist. Die Verwendung der meisten der genannten Materialien als erstes Material für das dielektrische Interferenzfilter hat den Vorteil, dass das Aufbringen von Schichten der genannten Materialien mit standardisierten CMOS-Prozessen realisierbar
35 ist. Dies wirkt sich vorteilhaft auf die Kosten des Fluoreszenz-Biosensorchips auf, da es die Herstellung des Fluoreszenz-Biosensorchips mit standardisierten und

ausgereiften Verfahren ermöglicht. Das zweite Material des dielektrischen Interferenzfilters mit einem niedrigen Brechungsindex ist vorzugsweise Siliziumdioxid (SiO_2), das ebenfalls mit CMOS-Prozessen kompatibel ist und somit die 5 kostengünstige und wenig aufwändige Herstellung des Fluoreszenz-Biosensorchips unterstützt. Das zweite Material kann aber auch eines der Materialien Titanoxid (TiO_2), Siliziumnitrid (Si_3N_4), Hafniumoxid (HfO_2), Zirkoniumoxid (10 ZrO_2), Aluminiumoxid (Al_2O_3), Polysilizium (polykristallines Silizium) oder Indium-Zinn-Oxid (ITO) sein. Ferner kann das zweite Material eine beliebige Mischung aus den genannten 15 oder anderen Materialien sein, derart, dass das zweite Material einen geeigneten Brechungsindex aufweist. Es ist zu betonen, dass die Materialien des dielektrischen Filters des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips nicht auf die genannten Materialien beschränkt sind. Es kann für das erste Material mit einem hohen Brechungsindex jedes andere geeignete Material mit einem ausreichend hohen Brechungsindex gewählt werden, und es kann für das zweite Material mit einem 20 niedrigen Brechungsindex jedes andere geeignete Material mit einem ausreichend niedrigen Brechungsindex gewählt werden.

Entscheidend für die Funktionalität des dielektrischen Interferenzfilters ist es, dass das dielektrische Interferenzfilter für Licht zwischen einer ersten Grenzwellenlänge und einer zweiten Grenzwellenlänge möglichst undurchlässig sein soll. Mit anderen Worten soll das Interferenzfilter derart eingerichtet sein, dass es für elektromagnetische Strahlung mit einer Wellenlänge oberhalb 30 der unteren Grenzwellenlänge und unterhalb der oberen Grenzwellenlänge einen Transmissionskoeffizienten von idealerweise Null, realistischerweise möglichst nah bei Null aufweist. Dagegen soll das dielektrische Interferenzfilter für elektromagnetische Strahlung mit einer Wellenlänge unterhalb der unteren Grenzwellenlänge oder oberhalb der 35 oberen Grenzwellenlänge möglichst gut durchlässig sein, d.h. für elektromagnetische Strahlung der genannten

Wellenlängenbereiche einen Transmissionskoeffizienten von idealerweise eins, realistischerweise möglichst nahe bei eins aufweisen. Ferner soll das dielektrische Interferenzfilter eine große Flankensteilheit aufweisen, d.h., dass der

5 Transmissionskoeffizient bei der unteren Grenzwellenlänge möglichst sprunghaft von eins auf Null abfallen und bei der oberen Grenzwellenlänge möglichst sprunghaft von Null auf eins ansteigen soll.

10 Vorzugsweise ist das dielektrische Interferenzfilter eine Anordnung aus 31 Schichten mit abwechselnd hohem und niedrigen Brechungsindex:

$$0,5H; L; (HL)^{14}; 0,5H$$

15

Dabei sind die Schichtdicken in Vierteln von optischen Wellenlängen angegeben, d.h. in Vielfachen und Bruchteilen von $\lambda/4$. Mit der Bezeichnung 0,5H ist eine Schicht aus einem hochbrechenden („H“ für „high“) Material bezeichnet, deren 20 Dicke der Hälfte einer Viertel Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes in dem durchlaufenden Medium entspricht. 0,5H bezeichnet demzufolge eine $\lambda/8$ -Schicht aus dem hochbrechenden Material, wobei λ der Quotient aus der Vakuum-Lichtwellenlänge und dem Brechungsindex des Mediums ist. Auf 25 die $\lambda/8$ -Schicht des hochbrechenden Materials folgt eine $\lambda/4$ -Schicht des niederbrechenden Materials („L“ für „low“). Darauf folgen 14 $\lambda/4$ -Doppelschichten aus alternierend dem hochbrechenden Material und dem niederbrechenden Material. Die Schichtanordnung wird wiederum von einer $\lambda/8$ -Schicht aus 30 dem hochbrechenden Material abgeschlossen. Das beschriebene Schichtsystem ist aus alternierenden Schichten von Siliziumdioxid-Material (niederbrechend) und Siliziumnitrid-Material (hochbrechend) aufgebaut.

35 Mittels Einstellen der Schichtdicken lässt sich die Wellenlänge des Reflexionsmaximums bei einem festgelegten Einfallswinkel des Lichtes festlegen. Gemäß dem oben

beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiels des dielektrischen Interferenzfilters aus 31 Schichten Siliziumdioxid/Siliziumnitrid wird Licht in einem Wellenlängenbereich zwischen ungefähr 350 Nanometer und 5 ungefähr 390 Nanometer zu mehr als 99% reflektiert.

Wie oben beschrieben, kann die optische Filterschicht des Fluoreszenz-Biosensorchips der Erfindung auch mindestens ein Kantenfilter aufweisen. Das Kantenfilter ist vorzugsweise ein 10 aus einem organischen Material hergestelltes Farbfilter.

Derartige Farbfilter aus organischen Materialien weisen einen Wellenlängenabhängigen Absorptionskoeffizienten auf.

Derartige Farbfilter aus organischen Materialien weisen zwar häufig keine steilen Filterflanken auf, wie sie für einen 15 großen Dynamikbereich erforderlich sind, jedoch haben derartige Filter die vorteilhafte Eigenschaft, häufig keine starke Welligkeit aufzuweisen, d.h. keine oszillatorischen Merkmale in der Absorptionskoeffizient-Wellenlängen-Kennlinie aufzuweisen. Daher ist der Einsatz von Kantenfiltern 20 erfindungsgemäß besonders vorteilhaft, wenn ein Kantenfilter mit einem Bandfilter kombiniert wird.

Die geeignete Kombination von mindestens einem Bandfilter und/oder mindestens einem Kantenfilter ermöglicht es, die Absorptionseigenschaften der optischen Filterschicht des Fluoreszenz-Biosensorchips der Erfindung flexibel auf die Bedürfnisse des Einzelfalls einstellen zu können. Für Anwendungen, bei denen eine mäßige Nachweisempfindlichkeit ausreichend ist, kann die optische Filterschicht einfach 30 ausgestaltet sein. Alternativ dazu kann die optische Filterschicht gestaltet sein, um eine optimierte

Nachweisempfindlichkeit des Fluoreszenz-Biosensorchips beispielsweise in bestimmten Wellenlängenbereichen zu ermöglichen. Daher kann mittels des erfindungsgemäßen 35 Ausgestaltens der optischen Filterschicht eine gewünschte Balance zwischen Kostengünstigkeit und Nachweisgenauigkeit erreicht werden.

Der Fluoreszenz-Biosensorchip weist vorzugsweise ferner eine Schaltkreis-Schicht zwischen dem Substrat und der optischen Filterschicht auf, wobei in die Schaltkreis-Schicht

5 mindestens ein elektrisches Bauelement integriert ist und wobei die Schaltkreis-Schicht mit der mindestens einen Detektions-Einrichtung elektrisch gekoppelt ist.

Indem die Schaltkreis-Schicht zwischen dem Substrat und der 10 optischen Filterschicht angeordnet ist, ist eine Herstellung des Fluoreszenz-Biosensorchips mit der Schaltkreis-Schicht

) nach einem standardisierten CMOS-Prozess ermöglicht. Dies trägt zur Kostengünstigkeit des Fluoreszenz-Biosensorchips bei. Die Schaltkreis-Schicht dient im Wesentlichen dazu, ein

15 von den Detektions-Einrichtungen detektiertes Hybridisierungsereignis auf der Immobilisierungs-Schicht elektrisch auszulesen. Erfolgt auf der Immobilisierungs-Schicht ein Hybridisierungsereignis und wird von den hybridisierten nachzuweisenden Molekülen ein

20 elektromagnetisches Fluoreszenzsignal in Richtung der Photodioden ausgesendet, so erfolgt in den Photodioden eine Ladungstrennung, die mittels der elektronischen Bauelemente der Schaltkreis-Schicht elektrisch auslesbar ist.

Insbesondere ist mittels der Schaltkreis-Schicht die 30 mindestens eine Detektions-Einrichtung elektrisch ansteuerbar. Mit anderen Worten kann jede einzelne Photodiode dahingehend ausgelesen werden, ob an ihr ein elektrisches Signal infolge eines Hybridisierungsereignisses auf der Immobilisierungs-Schicht anliegt.

Die Immobilisierungs-Schicht des Fluoreszenz-Biosensorchips weist beispielsweise eines oder eine Kombination der Materialien Siliziumdioxid, Siliziumnitrid organisches

35 Material und/oder Gold auf.

Ferner können gemäß dem erfundungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchip eine Vielzahl von Fänger molekülen mit der Immobilisierungs-Schicht gekoppelt sein, wobei die Fänger moleküle derart eingerichtet sind, dass an die 5 bindungsbereiten Fänger moleküle ein zu dem Fänger molekül komplementäres nachzuweisendes Molekül ankoppelbar ist. Insbesondere kann die Anzahl nachzuweisender Moleküle größer sein als die Anzahl der auf der Immobilisierungs-Schicht eines Fluoreszenz-Biosensorchips immobilisierten 10 Fänger moleküle. Hat jedes der Fänger moleküle eines Fluoreszenz-Biosensorchips mit einem nachzuweisenden Molekül hybridisiert, ist der Fluoreszenz-Biosensorchip in „Sättigung“, d.h. er weist keine bindungsbereiten Fänger moleküle mehr auf, so dass nicht hybridisierte 15 nachzuweisende Moleküle ggf. mit anderen Fänger molekülen an außerhalb des Sättigungszustands befindlichen Fluoreszenz-Biosensorchips (z.B. bei einer Anordnung mehrerer Fluoreszenz-Biosensorchips) hybridisieren können. Die Fänger moleküle können insbesondere Nukleinsäuren (DNA oder 20 RNA), Peptide, Polypeptide, Proteine oder niedermolekulare Verbindungen sein. Unter niedermolekularen Verbindungen werden in der Chemie Verbindungen mit molekularen Massen von unter 1.700 Dalton (Molekülmasse in Gramm pro Mol) verstanden. Das oder die Materialien, aus dem oder denen die Immobilisierungs-Schicht hergestellt ist, wird oder werden 25 auf die anzukoppelnden Fänger moleküle abgestimmt. Die Fänger moleküle werden mittels der Mikrodispensierungstechnik an der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht immobilisiert. Dabei bilden sich automatisch ("Self Assembly"-Technik) 30 Bindungen zwischen dem Material der Immobilisierungs-Schicht und solchen Endgruppen der Fänger moleküle, die mit dem Material der Immobilisierungs-Schicht eine chemische Bindung eingehen. Besonders vorteilhafte Eigenschaften weist diesbezüglich des Materialpaar Gold/Schwefel auf, sodass als 35 besonders vorteilhafte Kombination die Anbindung von schwefelhaltigen Gruppen (beispielsweise Thiol-Endgruppen)

von Fänger molekülen mit aus Goldmaterial hergestellten Immobilisierungs-Schichten anzuführen ist.

Die Fänger moleküle sind sehr selektiv auf ganz bestimmte, zu den Fänger molekülen komplementäre nachzuweisende Moleküle sensitiv. Mit anderen Worten lagern sich nur ganz bestimmte, strukturell passende nachzuweisende Moleküle an ein bestimmtes Fänger molekül an. Bringt man also verschiedene Fänger moleküle auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht an, so ist eine parallele Analyse verschiedener nachzuweisender Stoffe möglich. Die parallele Analyse verschiedener nachzuweisender Stoffe, beispielsweise verschiedener DNA-Halbstränge oder verschiedener Proteine, wirkt zeitsparend und ist besonders für "High Throughput Screening"-Analysen interessant. So kann die Analyse einer Lösung einer unbekannten Zusammensetzung idealerweise in einem einzigen Analyseschritt unter Verwendung des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips realisiert werden. Eine derartige hochparallele Analyse wirkt zeitsparend.

Diejenigen auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht immobilisierten Fänger moleküle, die im Wesentlichen oberhalb einer der Detektions-Einrichtungen angeordnet sind, können als zu dieser Detektions-Einrichtung zugehörige Sensoren benen. Bei der Verwendung des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips tritt nun das Problem auf, dass auf die Detektions-Einrichtungen nicht nur das nachzuweisende Licht von den mit den Fänger molekülen hybridisierten nachzuweisenden Molekülen einfällt. Vielmehr fällt auf die Detektions-Einrichtungen auch Streulicht aus der Umgebung oder zum Anregen von Fluoreszenzmarkern vorgesehenes Primärlight ein. Diese parasitäre elektromagnetische Strahlung verfälscht das Signal der Detektions-Einrichtungen. Daher ist es wünschenswert, die Stärke dieses Rauschsignals (bzw. Untergrundsignals) quantitativ zu erfassen und von den detektierten Signalen zu subtrahieren. Dies ist

erfindungsgemäß realisierbar, indem ein Oberflächenabschnitt der Immobilisierungs-Schicht frei von Fängermolekülen ist, sodass an der mindestens einen unterhalb dieses Oberflächenabschnitts angeordneten Detektions-Einrichtung ein 5 Rauschsignal abnehmbar ist.

Indem das Rauschsignal von den Signalen aller anderen Detektions-Einrichtungen subtrahiert wird, ist von den anderen Signalen der Beitrag von parasitärem Streulicht von 10 dem zu detektierenden Fluoreszenzlicht trennbar, wodurch die Nachweisempfindlichkeit des Fluoreszenz-Biosensorchips erhöht ist. Das Rauschsignal (auch Nulleffekt oder Untergrundsignal genannt) kann auch simultan von mehreren Detektions-Einrichtungen gemessen werden, was die 15 Nachweisempfindlichkeit weiter erhöht.

Vorzugsweise weisen die nachzuweisenden Moleküle und/oder die Fängermoleküle einen Fluoreszenzmarker auf, wobei der Fluoreszenzmarker derart eingerichtet ist, dass er 20 elektromagnetische Strahlung eines dritten Wellenlängenbereichs absorbiert und nach erfolgter Absorption elektromagnetische Strahlung eines vierten Wellenlängenbereichs emittiert, wobei zumindest ein Teil des dritten Wellenlängenbereichs außerhalb des vierten Wellenlängenbereichs liegt, und wobei zumindest ein Teil des 25 vierten Wellenlängenbereichs innerhalb des ersten Wellenlängenbereichs liegt.

Im Weiteren wird die Funktionalität des Fluoreszenz- 30 Biosensorchips der Erfindung anschaulich beschrieben. Wenn an der Oberfläche des Fluoreszenz-Biosensorchips keine nachzuweisenden Moleküle mit Fluoreszenzmarkern an den Fängermolekülen angelagert sind, so gelangt extern eingestrahltes Licht durch die Fängermoleküle und die 35 Immobilisierungs-Schicht im Wesentlichen ungeschwächt hindurch. Das eingestrahlte Licht wird jedoch von einer entsprechend gewählten Filterschicht reflektiert und gelangt

daher nicht bis zu den in das Substrat integrierten Photodioden.

Bringt man die Oberfläche des Fluoreszenz-Biosensorchips 5 dagegen mit einer Lösung, die nachzuweisende Moleküle enthält, in Kontakt, so können nachzuweisende Moleküle mit den auf der Immobilisierungs-Schicht des Fluoreszenz-Biosensorchips angeordneten Fänger molekülen hybridisieren, falls die Fänger moleküle und die nachzuweisenden Moleküle 10 nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip zusammenpassen. Die hybridisierten nachzuweisenden Moleküle sind mit einem geeigneten Fluoreszenzmarker versehen. Alternativ können die 15 auch die Fänger moleküle mit einem Fluoreszenzmarker versehen sein. Fluoreszenzmarker sind Molekülgruppen, die elektromagnetische Strahlung eines bestimmten Wellenlängenbereichs (oben als der dritte Wellenlängenbereich bezeichnet) absorbieren und nach erfolgter Absorption elektromagnetische Strahlung eines anderen Wellenlängenbereichs (oben vierter Wellenlängenbereich 20 genannt) emittieren. Die Fluoreszenzmarker reemittieren elektromagnetische Strahlung mit im Vergleich zu dem eingestrahlten Licht erhöhten Wellenlängen. Fluoreszenzmarker werden an nachzuweisende Moleküle üblicherweise über sogenannte Linker-Moleküle, also das nachzuweisende Molekül mit dem Fluoreszenzmarker (bzw. dem Fänger molekül) koppelnde 25 Moleküle, angekoppelt. Hybridisieren nachzuweisende Moleküle mit daran angekoppelten Fluoreszenzmarkern an an der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht immobilisierten Fänger molekülen, so befinden sich die Fluoreszenzmarker 30 räumlich nahe der Immobilisierungs-Schicht. Wird Licht eines geeigneten Wellenlängenbereichs von extern eingestrahlt, so kann diese elektromagnetische Strahlung von den Fluoreszenzmarkern absorbiert werden, sofern die elektromagnetische Strahlung zumindest eine Wellenlänge 35 innerhalb des dritten Wellenlängenbereichs aufweist, innerhalb dem die Fluoreszenzmarker elektromagnetische Strahlung absorbieren können. Dadurch werden die

Fluoreszenzmarker in einen elektronischen Anregungszustand versetzt, der durch eine mittlere Lebensdauer gekennzeichnet ist. Im Mittel nach dieser mittleren Lebensdauer reemittieren die Fluoreszenzmarker elektromagnetische Strahlung eines

5 vierten Wellenlängenbereichs, wobei der vierte Wellenlängenbereich langwelligere elektromagnetischere Strahlung aufweist als der dritte Wellenlängenbereich. Mit anderen Worten hat das von den Fluoreszenzmarkern reemittierte Licht eine längere Wellenlänge als das

10 einfallende Licht. Allerdings ist die Intensität des reemittierten Lichtes typischerweise mehrere Größenordnungen geringer als die Intensität des einfallenden Lichtes, das beispielsweise von einer externen Strahlungsquelle bereitgestellt ist. Das Fluoreszenzlicht des vierten

15 Wellenlängenbereichs und das nicht absorbierte extern einfallende Licht durchlaufen die Immobilisierungs-Schicht und gelangen zu der optischen Filterschicht. Wie oben beschrieben, ist die optische Filterschicht derart eingerichtet, dass die optische Filterschicht

20 elektromagnetische Strahlung eines zweiten Wellenlängenbereichs totalreflektiert, wobei zumindest ein Teil des ersten Wellenlängenbereichs, in dem die Detektions-Einrichtungen elektromagnetische Strahlung detektieren können, außerhalb des zweiten Wellenlängenbereichs liegt. Der zweite Wellenlängenbereich, in dem die optische Filterschicht totalreflektiert, ist erfindungsgemäß derart eingerichtet, dass das von extern einfallende Licht im Wesentlichen reflektiert wird und dass das von den Fluoreszenzmarkern reemittierte Licht des vierten Wellenlängenbereichs im

25 Wesentlichen durch die optische Filterschicht transmittiert wird. Dadurch gelangt im Wesentlichen nur das intensitätsschwache Fluoreszenzlicht durch die Filterschicht hindurch, wohingegen das intensitätsstarke externe Licht, das zur Anregung der Fluoreszenzmarker diente, reflektiert wird.

30 Die von einem an einem bestimmten Fängermolekül befindlichen Fluoreszenzmarker emittierte elektromagnetische Strahlung des vierten Wellenlängenbereichs durchdringt die optische

Filterschicht und gelangt idealerweise nach Hindurchtreten durch die im Wesentlichen transparente Schaltkreis-Schicht auf diejenige Photodiode in dem Substrat, die von dem emittierenden Fluoreszenzmarker den geringsten Abstand 5 aufweist. Die Photodiode, die derart eingerichtet ist, dass damit elektromagnetische Strahlung eines ersten Wellenlängenbereichs detektierbar ist, ist zum Nachweis der elektromagnetischen Fluoreszenzstrahlung des vierten Wellenlängenbereichs geeignet, da der erfindungsgemäße 10 Fluoreszenz-Biosensorchip derart eingerichtet ist, dass zumindest ein Teil des vierten Wellenlängenbereichs innerhalb des ersten Wellenlängenbereichs liegt. Dadurch ist die Photodiode geeignet zum Nachweis der Fluoreszenzstrahlung und ist somit geeignet zum indirekten Nachweis eines 15 Hybridisierungseignisses auf einem darüber angeordneten Fängermolekül.

Alternativ können Hybridisierungseignisse mittels Detektieren von Fluoreszenzstrahlung nachgewiesen werden, 20 indem nach Andocken nachzuweisender Moleküle an Fluoreszenzmarker aufweisende Fängermoleküle die Sensorebene mit einer derart eingerichteten Substanz in Wirkkontakt gebracht wird, dass mittels dieser Substanz Fluoreszenzmarker aufweisende Fängermoleküle ohne angedockte nachzuweisende Moleküle von der Sensorebene abgelöst werden, wohingegen Fängermoleküle mit daran angedockten nachzuweisenden Molekülen auch in Anwesenheit der Substanz an der Sensorebene angedockt bleiben. Nachdem Fluoreszenzmarker aufweisende Fängermoleküle ohne damit hybridisierten nachzuweisenden 30 Molekülen abgelöst sind, verbleiben an der Sensorebene lediglich solche Fluoreszenzmarker aufweisende Fängermoleküle, an denen nachzuweisende Moleküle angedockt sind. Diese Hybridisierungseignisse sind dann gemäß dem oben beschriebenen Prinzip mittels Erfassen der 35 Fluoreszenzstrahlung der an den Fängermolekülen angekoppelten Fluoreszenzmarkern nachweisbar. Gemäß dem beschriebenen Alternativkonzept ist es entbehrlich, Fluoreszenzmarker an

nachzuweisenden Molekülen zu binden, statt dessen ist eine Anbindung der Fluoreszenzmarker an den Fänger molekülen möglich.

5 Gemäß einem weiteren Alternativkonzept können Fluoreszenzmarker erst nach den Hybridisierungseignissen zugegeben werden. Sind die Fluoreszenzmarker derart eingerichtet, dass sie nur an Fänger molekülen mit daran hybridisierten nachzuweisenden Molekülen binden (z.B. nur an 10 doppelsträngiger DNA binden), so ist die Intensität der von den Fluoreszenzmarkern emittierten elektromagnetischen Strahlung charakteristisch für die Anzahl der erfolgten Hybridisierungseignisse.

15 Erfindungsgemäß können auch verschiedene Fluoreszenzmarker verwendet werden, um unterschiedliche Moleküle mit unterschiedlichen Fluoreszenzmarkern nachzuweisen. Dadurch ist eine parallele Analyse möglich, mittels welcher die verschiedenen Komponenten eines Analyten simultan 20 untersuchbar und quantifizierbar sind.

Als Fluoreszenzmarker wird beispielsweise Coumarin (1,2-Benzpyron 2H-1-Benzpyran-2-on, C₉H₆O₂) verwendet. Der Fluoreszenzfarbstoff Coumarin hat die Eigenschaft, bei Anregung mit elektromagnetischer Strahlung der Wellenlänge 370 Nanometer in einem Wellenlängenbereich um ungefähr 460 Nanometer herum elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung zu reemittieren. Der Fluoreszenzmarker Coumarin gewährleistet also eine ausreichend starke Rotverschiebung der 30 reemittierten elektromagnetischen Strahlung, sodass anregende und emittierte elektromagnetische Strahlung voneinander gut trennbar sind. Als Fluoreszenzmarker kann auch jedes andere geeignete Material wie beispielsweise FITC, Cy2, Alexa Fluor 488, BODIPY 493, Rhodamine 123, R6G, TET, JOE, HEX, BODIPY 488, BODIPY 530, Alexa 532, R-Phycoerythrin, TRITC, Cy3, TAMRA, Texas 35 Red, ROX, BODIPY 630 und Cy5 verwendet werden.

Die Oberfläche des Fluoreszenz-Biosensorchips weist vorzugsweise eine matrizenartige Anordnung einzelner Sensorfelder auf. Wie oben angesprochen, ist jedes einzelne Sensorfeld mittels der Schaltkreis-Schicht einzeln auslesbar.

5 Um die Integrationsdichte der Sensorfelder zu erhöhen, sind die Sensorfelder möglichst dicht angeordnet. Dies ist für "High-Throughput-Screening"-Anwendungen vorteilhaft. Andererseits ist die dichte Anordnung von Sensorfeldern mit der Gefahr verbunden, dass optisches Übersprechen von einem 10 Sensorfeld zu einem benachbarten Sensorfeld auftreten kann. Die in dem Substrat integrierten Photodioden bilden die Immobilisierungs-Schicht mit den daran immobilisierten Fängermolekülen ortsrichtig ab. Dadurch ist eine Photodiode im Wesentlichen auf die Fluoreszenzstrahlung derjenigen 15 Fängermoleküle sensitiv, die im Wesentlichen oberhalb der Photodiode angeordnet sind. Unter optischem Übersprechen wird nun verstanden, dass elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung eines Fluoreszenzmarkers nicht auf die im Wesentlichen darunter liegende Photodiode abgestrahlt wird, sondern 20 beispielsweise in Richtung einer links oder rechts neben dieser Photodiode angeordneten anderen Photodiode emittiert wird. Dadurch besteht die Gefahr, dass ein Hybridisierungsereignis an einem Fängermolekül fehlerhafterweise von einer Photodiode, die nicht unterhalb 25 des Fängermoleküls angeordnet ist, nachgewiesen wird. Es ist ein Vorteil der Erfindung, dass erfindungsgemäß Möglichkeiten geschaffen sind, optisches Übersprechen zwischen benachbarten Sensorfeldern gering zu halten oder zu unterbinden. Daraus resultiert die vorteilhafte Wirkung, dass eine hohe 30 Integrationsdichte von Sensoren auf dem Fluoreszenz-Biosensorchip mit verringertem optischen Übersprechen kombiniert ist.

Um dieses Ziel zu erreichen, ist vorzugsweise in mindestens 35 einen Oberflächenbereich des Fluoreszenz-Biosensorchips mindestens ein Isolations-Graben zum optischen Isolieren benachbarter Detektions-Einrichtungen eingebracht, welcher

mindestens eine Isolations-Graben sich durch die Immobilisierungs-Schicht hindurch bis in einen Bereich der optischen Filterschicht hineinerstreckt derart, dass unterhalb jedes Bereichs zwischen zwei benachbarten

5 Isolations-Gräben jeweils eine Detektions-Einrichtung angeordnet ist. Vorzugsweise ist mindestens ein Teil der Oberfläche des mindestens einen Isolations-Grabens mit einer Schicht aus einem absorbierenden Material bedeckt oder es ist mindestens einer der Gräben mit einem absorbierenden Material gefüllt, wobei das absorbierende Material derart eingerichtet ist, dass mittels des absorbierenden Materials

) elektromagnetische Strahlung zumindest des jeweiligen Wellenlängenbereichs bzw. der jeweiligen Wellenlängenbereiche absorbiert oder reflektiert wird.

15

Wenn, wie oben beschrieben, von einem bezogen auf die Lichteinfallsrichtung im Wesentlichen oberhalb einer ersten Photodiode angeordneten Fluoreszenzmarker

20 Fluoreszenzstrahlung in eine Richtung emittiert wird, in der nicht die darunter gelegene Photodiode, sondern eine daran benachbarte Photodiode angeordnet ist, so kann mittels eines zwischen die Photodioden geeignet eingebrachten und mit einem elektromagnetische Strahlung absorbierenden Material zumindest teilweise aufgefüllten Grabens verhindert werden,

2 dass die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung von einer „falschen“ Photodiode nachgewiesen wird. Statt einem falschen Nachweis wird die Fluoreszenzstrahlung von dem absorbierenden Material in dem Graben absorbiert.

30 Dadurch ist die Gefahr des optischen Übersprechens herabgesetzt. Dies ist vorteilhaft, da dadurch die Nachweisempfindlichkeit des Fluoreszenz-Biosensorchips erhöht und die Fehleranfälligkeit des Fluoreszenz-Biosensorchips verringert ist.

35

Optisches Übersprechen kann weiter verringert werden, indem in mindestens einem Bereich der Schaltkreis-Schicht eine

Barriereschicht aus einem absorbierenden Material vorgesehen ist, derart, dass unterhalb jedes Bereichs zwischen zwei benachbarten Barriereschichten jeweils eine Detektions-Einrichtung angeordnet ist, wobei das absorbierende Material 5 derart eingerichtet ist, dass es elektromagnetische Strahlung zumindest des jeweiligen Wellenlängenbereichs bzw. der jeweiligen Wellenlängenbereiche absorbiert oder reflektiert.

Wie oben beschrieben ist der Isolations-Graben in die 10 Immobilisierungs-Schicht und zumindest teilweise in die optische Filterschicht eingebracht, beispielsweise geätzt. Fluoreszenzstrahlung, die in einem derartigen Winkel von einem Fluoreszenzmarker reemittiert wird, dass die 15 Fluoreszenzstrahlung bei ihrem Weg zu einer links oder rechts der unterhalb des Fluoreszenzmarkers angeordneten Photodiode nicht durch den Isolations-Graben hindurch tritt, sondern unterhalb des Isolations-Grabens durch die Schaltkreis-Schicht läuft, kann trotz des Isolations-Grabens von einer „falschen“ Photodiode nachgewiesen werden. Mittels der 20 Isolations-Gräben ist die Gefahr optischen Übersprechens also verringert, nicht aber unbedingt vollständig ausgeschlossen.

Um optisches Übersprechen weiter herabzusetzen, können wie oben beschrieben Barriereschichten aus absorbierendem Material in die Schaltkreis-Schicht eingebracht werden. Diese Barriereschichten haben im Wesentlichen dieselbe Funktion wie das absorbierende Material in den Isolations-Gräben, nämlich Fluoreszenzstrahlung auf dem Weg zu einer „falschen“ Photodiode zu absorbieren und/oder zu reflektieren. 30 Allerdings nimmt die Barriereschicht diese Funktionalität in der Schaltkreis-Schicht wahr, wohingegen die Isolations-Gräben diese Funktionalität in der Immobilisierungs-Schicht und in der optischen Filterschicht wahrnehmen. Vorzugsweise erfüllen die Barriereschichten in der Schaltkreis-Schicht 35 eine Doppelfunktion. Einerseits wird - wie oben beschrieben - optisches Übersprechen mittels der Barriereschichten unterbunden, andererseits können die absorbierenden und/oder

reflektierenden Barrièreschichten, sofern diese aus einem elektrisch leitfähigen Material hergestellt sind, auch die Funktion elektronischer Bauelemente in der Schaltkreis-Schicht wahrnehmen. So können beispielsweise die

5 Barrièreschichten als elektrische Zuleitungen zu den Photodioden in den Substrat dienen. Vorzugsweise sind die Barrièreschichten in die Schaltkreis-Schicht eingebrachte metallische Leiterbahnen oder Durchgangslöcher, die mit einem elektrisch leitfähigen und elektromagnetische Strahlung absorbierenden/reflektierenden Material aufgefüllt sind. Mittels der Barrièreschichten ist optisches Übersprechen 10 zwischen benachbarten Sensorfeldern weiter vermindert, wodurch die Nachweisempfindlichkeit erhöht ist. Die erfindungsgemäße Doppelfunktion der Barrièreschicht als 15 Mittel zum Vermindern optischen Übersprechens einerseits und als elektrisch integrierte Bauelemente andererseits ist ökonomisch und platzsparend.

20 Durch die Erfindung ist ferner eine Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung mit einem Fluoreszenz-Biosensorchip und einer elektromagnetischen Strahlungsquelle bereitgestellt. Der Fluoreszenz-Biosensorchip weist auf ein Substrat, mindestens eine im oder auf dem Substrat angeordnete Detektions-Einrichtung zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung eines ersten Wellenlängenbereichs, eine auf dem Substrat angeordnete optische Filterschicht zum Absorbieren und/oder Reflektieren 25 von elektromagnetischer Strahlung eines zweiten Wellenlängenbereichs, eine auf der optischen Filterschicht angeordnete Immobilisierungs-Schicht zum Immobilisieren von Fängermolekülen, wobei die Detektions-Einrichtung, die Filterschicht und die Immobilisierungs-Schicht in dem Fluoreszenz-Biosensorchip integriert sind. Die 30 elektromagnetische Strahlungsquelle ist derart eingerichtet, dass mittels der elektromagnetischen Strahlungsquelle ein 35 Oberflächenbereich des Fluoreszenz-Biosensorchip mit

elektromagnetischer Strahlung eines dritten Wellenlängenbereichs bestrahlbar ist.

5 Es ist zu betonen, dass all diejenigen Ausgestaltungen, die weiter oben bezugnehmend auf den erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchip beschrieben sind, auch für die erfindungsgemäße Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung gelten.

10 Die Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung der Erfindung weist zusätzlich zu dem erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchip im Wesentlichen eine elektromagnetische Strahlungsquelle auf.

15 Die elektromagnetische Strahlungsquelle ist dafür vorgesehen, den Oberflächenbereich des Fluoreszenz-Biosensorchips mit elektromagnetischer Strahlung eines dritten Wellenlängenbereichs zu bestrahlen. Vorzugsweise ist die elektromagnetische Strahlungsquelle ein Laser, eine Leuchtdiode, eine Gasentladungslampe oder eine Glühlampe.

20 Ist die elektromagnetische Strahlungsquelle als Laser ausgestaltet, so ist dadurch ermöglicht, dass die Oberfläche des Fluoreszenz-Biosensorchips mit monochromatischem, schmalbandigem Licht bestrahlbar ist. Monochromatisches Licht ist mittels einer Filterschicht, deren optische Absorptionseigenschaften wellenlängenabhängig sind, gut wegfilterbar.

25 Die Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung weist ferner eine Vielzahl von Fängermolekülen auf, die mit der Immobilisierungs-Schicht gekoppelt sind und die derart eingerichtet sind, dass an die Fängermoleküle ein zu dem Fängermolekül komplementäres nachzuweisendes Molekül ankoppelbar ist. Die Ankopplung der Fängermoleküle an die Immobilisierungs-Schicht erfolgt so, wie dies weiter oben bezugnehmend auf den Fluoreszenz-Biosensorchip beschrieben worden ist.

35 Jedes nachzuweisende Molekül weist darüber hinaus einen Fluoreszenzmarker auf, wobei der Fluoreszenzmarker derart

eingerichtet ist, dass er zumindest teilweise elektromagnetische Strahlung des dritten Wellenlängenbereichs absorbiert und nach erfolgter Absorption elektromagnetische Strahlung eines vierten Wellenlängenbereichs emittiert, wobei

5 zumindest ein Teil des dritten Wellenlängenbereichs außerhalb des vierten Wellenlängenbereichs liegt und wobei zumindest ein Teil des vierten Wellenlängenbereichs innerhalb des ersten Wellenlängenbereichs liegt. Darüber hinaus liegt zumindest ein Teil des ersten Wellenlängenbereichs außerhalb

10 des zweiten Wellenlängenbereichs.

1. Im Weiteren wird die Funktionalität der erfundungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung näher beschrieben. Mittels der elektromagnetischen Strahlungsquelle wird die

15 Oberfläche der Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung mit elektromagnetischer Strahlung des dritten Wellenlängenbereichs bestrahlt. An der Oberfläche der Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung der Erfundung befindet sich die Immobilisierungs-Schicht, an der Fängermoleküle

20 immobilisiert sind. Eine Lösung mit nachzuweisenden Molekülen wird mit dieser aktiven Sensoroberfläche in Wirkkontakt gebracht. Sind in dieser Lösung befindliche nachzuweisende Moleküle mit auf der Immobilisierungs-Schicht immobilisierten Fängermolekülen ausreichend komplementär, so erfolgt eine

2. Hybridisierung der nachzuweisenden Moleküle mit den Fängermolekülen. Die nachzuweisenden Moleküle sind beispielsweise über ein Linker-Molekül mit einem Fluoreszenzmarker gekoppelt, wobei der Fluoreszenzmarker derart eingerichtet ist, dass er zumindest teilweise

30 elektromagnetische Strahlung des dritten Wellenlängenbereichs absorbiert. Daher erfolgt nach der Hybridisierung der nachzuweisenden Moleküle an den Fängermolekülen eine Absorption des von der elektromagnetischen Strahlungsquelle emittierten Lichtes durch die Fluoreszenzmarker an den

35 nachzuweisenden Molekülen. Die Fluoreszenzmarker sind derart eingerichtet, dass nach der Absorption elektromagnetischer Strahlung des dritten Wellenlängenbereichs die

Fluoreszenzmarker elektromagnetische Strahlung eines vierten Wellenlängenbereichs emittieren, wobei zumindest ein Teil des dritten Wellenlängenbereichs außerhalb des vierten Wellenlängenbereichs liegt. Dies bedeutet, dass die

5 Fluoreszenzstrahlung der Fluoreszenzmarker langwelliger ist als die zuvor absorbierte Strahlung des dritten Wellenlängenbereichs, die von der elektromagnetischen Strahlungsquelle bereitgestellt ist. Die Primärstrahlung in dem dritten Wellenlängenbereich und die Fluoreszenzstrahlung 10 in dem vierten Wellenlängenbereich durchdringen die Immobilisierungs-Schicht und gelangen dann zu der optischen Filterschicht. Die optische Filterschicht ist derart eingerichtet, dass mittels der optischen Filterschicht elektromagnetische Strahlung des zweiten Wellenlängenbereichs 15 absorbiert und/oder reflektiert wird. Idealerweise wird von der optischen Filterschicht die elektromagnetische Strahlung des dritten Wellenlängenbereichs, die von der externen elektromagnetischen Strahlungsquelle stammt, vollständig reflektiert bzw. absorbiert. Dagegen wird idealerweise von 20 der optischen Filterschicht die elektromagnetische Strahlung des vierten Wellenlängenbereichs, die von den Fluoreszenzmarkern stammt, vollständig transmittiert. Mit anderen Worten ist die optische Filterschicht derart eingerichtet, dass sie für das Fluoreszenzlicht vollständig durchlässig ist, wohingegen sie für das Licht der elektromagnetischen Strahlungsquelle vollständig 25 undurchlässig ist.

Dadurch gelangt im Idealfall ausschließlich die 30 Fluoreszenzstrahlung zu den in dem Substrat integrierten Detektions-Einrichtungen zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung des ersten Wellenlängenbereichs. Erfindungsgemäß liegt zumindest ein Teil des vierten Wellenlängenbereichs, in dem die Fluoreszenzstrahlung der Fluoreszenzmarker liegt, 35 innerhalb des ersten Wellenlängenbereichs, innerhalb dem die Detektions-Einrichtungen zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung fähig sind. Dadurch kann die erfolgte

Hybridisierung von nachzuweisenden Molekülen samt Fluoreszenzmolekülen mit an der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht gebundenen Fänger molekülen mittels eines elektrischen Signals an den in dem Substrat

5 integrierten Photodioden nachgewiesen werden. Dabei kommt der geeigneten Einstellung der beteiligten Wellenlängenbereiche eine maßgebliche Bedeutung zu.

Im Weiteren werden Ausgestaltungen der Fluoreszenz-

10 Biosensorchip-Anordnung der Erfindung beschrieben, mittels welcher die Nachweisempfindlichkeit der Fluoreszenz-
Biosensorchip-Anordnung erhöhbar ist.

Vorzugsweise ist die elektromagnetische Strahlungsquelle

15 derart ausrichtbar, dass die von der elektromagnetischen Strahlungsquelle emittierte elektromagnetische Strahlung unter einem vorgebbaren Winkel zur Normalen-Richtung der optischen Filterschicht.

20 Anschaulich ist die Richtung, unter der die elektromagnetische Strahlung der elektromagnetischen Strahlungsquelle auf die Fänger moleküle einfällt, vorgebar, beispielsweise indem eine elektromagnetische Strahlungsquelle verwendet wird, die ein Bündel paralleler Lichtstrahlen
25 erzeugt, und indem diese elektromagnetische Strahlungsquelle verschiebbar, drehbar, schwenkbar bzw. kippbar eingerichtet ist. Mittels eines schrägen Einfalls des anregenden Lichtes auf die Fluoreszenzmarker trifft der durch den optischen Filter transmittierte Teil des anregenden Lichtes nicht
30 direkt auf diejenige Photodiode, die im Wesentlichen unterhalb des absorbierenden und emittierenden Fluoreszenzmarkers angeordnet ist. Mit anderen Worten wird das die Nachweisempfindlichkeit der Fluoreszenz-
Biosensorchip-Anordnung verringende störende Primärlicht
35 teilweise „geometrisch“ abgeschirmt. Um zu verhindern, dass das schräg einfallende anregende Licht in benachbarten Photodioden nachteilige Wirkungen entfaltet, kann das schräg

einfallende anregende Licht wie oben beschrieben mittels Isolations-Gräben und/oder Barriereforschichten gegebenenfalls vom Nachweis abgeschirmt werden.

5 Mittels Ausnützens des schrägen Einfalls der elektromagnetischen Strahlung der elektromagnetischen Strahlungsquelle können Schatteneffekte vorteilhaft genutzt werden, um die Nachweisempfindlichkeit der Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung zu erhöhen.

10

Gemäß einer anderen Ausgestaltung der Erfindung ist die elektromagnetische Strahlungsquelle derart eingerichtet, dass die von der elektromagnetischen Strahlungsquelle emittierte elektromagnetische Strahlung in Pulsen emittiert ist und bei 15 dem die Detektions-Einrichtungen derart eingerichtet sind, dass die von den Fluoreszenzmarkern emittierte elektromagnetische Strahlung in den Zeitintervallen zwischen den Pulsen mittels der Detektions-Einrichtungen detektierbar ist.

20

Dabei wird der physikalische Effekt ausgenutzt, dass der angeregte Elektronenzustand des Fluoreszenzmarkers nach Absorbieren des anregenden Lichtes eine endliche, von Null verschiedene Lebensdauer aufweist. Strahlt man einen kurzen Puls von anregendem Licht mittels der elektromagnetischen Strahlungsquelle auf die Fluoreszenzmarker ein, so werden die Fluoreszenzmarker mittels Absorption des Lichts in einen angeregten Elektronenzustand versetzt. Das nicht von den Fluoreszenzmarkern absorbierte einfallende Licht erreicht 30 aufgrund der hohen Lichtgeschwindigkeit quasi instantan die Detektoreinrichtungen, deren Signal zu diesem Zeitpunkt nicht erfasst wird. Mit anderen Worten sind die Detektions-Einrichtungen während des Pulses ausgeschaltet. Nach einem Zeitintervall, das im Wesentlichen der mittleren Lebensdauer 35 des angeregten Elektronenzustandes des Fluoreszenzmarkers entspricht, wird von den Fluoreszenzmarkern eine zeitverzögerte elektromagnetische Fluoreszenzwelle

abgestrahlt. Die Zeitverzögerung liegt in der Größenordnung der natürlichen Lebensdauer von angeregten

Elektronenzuständen (ungefähr Mikrosekunden bis Nanosekunden). Wird erst nach dieser Zeitverzögerung das

5 Messsignal der Detektions-Einrichtungen aufgenommen, so ist der parasitäre Nachweis von anregendem Licht vermieden und es wird nur Fluoreszenzstrahlung nachgewiesen. Hierzu sind vorzugsweise Detektions-Einrichtungen mit ausreichend guter Zeitauflösung zu wählen, beispielsweise Photodioden, die eine 10 Zeitauflösung im Sub-Nanosekundenbereich aufweisen. Mittels Unterdrückung des Nachweises des Primärlichtes ist die Nachweisempfindlichkeit der Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung der Erfindung erhöht.

15 Ausführungsbeispiele der Erfindung sind in den Figuren dargestellt und werden im Weiteren näher erläutert.

Es zeigen:

20 Figur 1A eine schematische Ansicht eines Fluoreszenz-Biosensorchips gemäß dem Stand der Technik,

Figur 1B eine Explosionsdarstellung eines anderen Fluoreszenz-Biosensorchips gemäß dem Stand der Technik,

Figur 2 eine Querschnittsansicht eines Fluoreszenz-Biosensorchips gemäß einem ersten Ausführungsbeispiel der Erfindung,

30

Figur 3 eine Querschnittsansicht eines Fluoreszenz-Biosensorchips gemäß einem zweiten Ausführungsbeispiel der Erfindung,

35 Figur 4 ein Diagramm, das schematisch die Abhängigkeit der Transmission von der Wellenlänge eines dielektrischen Interferenzfilters gemäß einem bevorzugten

Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen optischen Filterschicht zeigt,

5 Figur 5A eine Draufsicht eines Fluoreszenz-Biosensorchips
gemäß einem dritten Ausführungsbeispiel der
Erfindung,

10 Figur 5B eine vergrößerte teilweise Querschnittsansicht
entlang der Schnittlinie I-I' aus Figur 5A gemäß dem
dritten bevorzugten Ausführungsbeispiels des
Fluoreszenz-Biosensorchips der Erfindung,

15 Figur 6A ein Schaltbild mit einer Ansteuerlogik zum Ansteuern
eines Sensorfeldes gemäß einem bevorzugten
Ausführungsbeispiel des Fluoreszenz-Biosensorchips
der Erfindung,

20 Figur 6B eine vergrößerte Ansicht der Ansteuerlogik zum
Ansteuern eines Sensorfeldes gemäß dem bevorzugten
Ausführungsbeispiel des Fluoreszenz-Biosensorchips
der Erfindung,

Figur 7 eine Querschnittsansicht einer Fluoreszenz-
Biosensorchip-Anordnung gemäß einem bevorzugten
Ausführungsbeispiel der Erfindung.

Im Weiteren wird bezugnehmend auf **Fig. 2** ein Fluoreszenz-
Biosensorchip 200 gemäß einem ersten Ausführungsbeispiel der
Erfindung beschrieben.

30 Der Fluoreszenz-Biosensorchip 200 weist ein Substrat 201,
mindestens eine in oder auf dem Substrat 201 angeordnete
Detektions-Einrichtung 202 zum Erfassen von
elektromagnetischer Strahlung, eine auf dem Substrat 201
35 angeordnete optische Filterschicht 203 und eine auf der
optischen Filterschicht 203 angeordnete Immobilisierungs-
Schicht 204 zum Immobilisieren von Fänger molekülen auf. Die

Detektions-Einrichtungen 202, die Filterschicht 203 und die Immobilisierungs-Schicht 204 sind in dem Fluoreszenz-Biosensorchip 200 integriert, wie in **Fig. 2** gezeigt.

5

Gemäß dem in **Fig. 2** gezeigten Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips 200 ist das Substrat 201 aus Siliziummaterial hergestellt. Darüber hinaus sind sechs Detektions-Einrichtungen 202 bereitgestellt, wobei jede der sechs Detektions-Einrichtungen 202 als Photodiode ausgebildet ist, die derart eingerichtet sind, dass damit elektromagnetische Strahlung eines ersten Wellenlängenbereichs detektierbar ist. Wie in **Fig. 2** gezeigt, sind benachbarte Detektions-Einrichtungen 202 in einem Abstand „d“ voneinander angebracht. Der Abstand „d“, der gemäß dem in **Fig. 2** gezeigten Ausführungsbeispiel gleich 200 Mikrometer ist, ist ein Maß für die Pixelgröße eines Sensorfeldes auf der Oberfläche des Fluoreszenz-Biosensorchips. Mit anderen Worten gehören all diejenigen auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht 204 immobilisierbaren Fänger moleküle, die zu einer bestimmten Detektions-Einrichtung 202 einen geringeren Abstand haben als zu allen anderen Sensoreinrichtungen 202, zu einem Sensorpixel. Der Abstand „d“ ist daher ein Maß für die eindimensionale Ortsauflösung des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips 200. Mit anderen Worten ist d^2 ein Maß für die zweidimensionale Ortsauflösung des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips 200, d.h. für die erforderliche Oberfläche des Fluoreszenz-Biosensorchips 200 pro Sensorpixel.

Die optische Filterschicht 203 ist derart eingerichtet, dass die optische Filterschicht 203 elektromagnetische Strahlung eines zweiten Wellenlängenbereichs absorbiert, wobei zum mindesten ein Teil des ersten Wellenlängenbereichs außerhalb des zweiten Wellenlängenbereichs liegt.

Gemäß dem in **Fig. 2** gezeigten Ausführungsbeispiel ist die optische Filterschicht 203 als Kantenfilter ausgestaltet. Das Kantenfilter 203 des Fluoreszenz-Biosensorchips 200 absorbiert elektromagnetische Strahlung unterhalb einer 5 Grenzwellenlänge. Das optische Kantenfilter 203 ist ein aus einem organischen Material hergestelltes Farbfilter.

Wie in **Fig. 2** gezeigt, hat die optische Filterschicht 203 eine Dicke „h“, die gemäß dem beschriebenen 10 Ausführungsbeispiel in der Größenordnung von 70 Mikrometer liegt. Die Dicke „h“ der als organisches Kantenfilter ausgestalteten optischen Filterschicht 203 ist ausreichend groß zu wählen, um solche elektromagnetische Strahlung, die nicht zu den Detektions-Einrichtungen 202 gelangen soll, 15 möglichst vollständig zu absorbieren, und die als organisches Kantenfilter ausgestaltete optische Filterschicht 203 ist ausreichend dünn zu wählen, um solche elektromagnetische Strahlung, die zu den Detektions-Einrichtungen 202 gelangen soll, um von den Detektions-Einrichtungen 202 nachgewiesen zu 20 werden, in ausreichendem Maße zu transmittieren.

Die in **Fig. 2** gezeigte Immobilisierungs-Schicht 204 ist gemäß dem beschriebenen Ausführungsbeispiel eine dünne Goldschicht.

Der Fluoreszenz-Biosensorchip 200 weist ferner eine Schaltkreis-Schicht 205 zwischen dem Substrat 201 und der optischen Filterschicht 203 auf, wobei in die Schaltkreis-Schicht 205 mindestens ein elektrisches Bauelement integriert ist, und wobei die Schaltkreis-Schicht 205 mit der mindestens 30 einen Detektions-Einrichtung 202 elektrisch gekoppelt ist.

Die elektrischen Bauelemente, die in der Schaltkreis-Schicht 205 integriert sind, sind in **Fig. 2** nicht gezeigt. Die Schaltkreis-Schicht 205 ist derart eingerichtet, dass mittels 35 der Schaltkreis-Schicht 205 die Detektions-Einrichtungen 202 jeweils einzeln elektrisch ansteuerbar sind. Ein Ausführungsbeispiel für einen geeigneten elektrischen

Ansteuer-Schaltkreis wird weiter unten beschrieben. Gemäß dem in **Fig. 2** gezeigten Fluoreszenz-Biosensorchip 200 weist die Schaltkreis-Schicht 205 MOS-Transistoren zum Auswählen einer der Detektions-Einrichtungen 202, elektrisch leitende

5 Verbindungen zum Ankoppeln der Detektions-Einrichtung 202 an einen Ansteuer-Schaltkreis und weitere elektronische Bauelemente auf, die zur Verstärkung und Auswertung des Messsignals dienen. Diese elektrischen Bauelemente sind in die Schaltkreis-Schicht 205 integriert. Wie in **Fig. 2**
10 gezeigt, hat die Schaltkreis-Schicht 205 eine Dicke „1“, die gemäß dem beschriebenen Ausführungsbeispiel ungefähr fünf
15 Mikrometer ist. Die Dicke „1“ sollte ausreichend klein gewählt sein bzw. die Materialien sollten geeignet gewählt sein, dass Verluste infolge Absorption nachzuweisender elektromagnetischer Strahlung in der Schaltkreis-Schicht 205 gering sind.

Der Fluoreszenz-Biosensorchip 200 enthält ferner eine Vielzahl von Fängermolekülen 206, die mit der
20 Immobilisierungs-Schicht 204 gekoppelt sind und die derart eingerichtet sind, dass an jedes der bindungsbereiten Fängermoleküle 206 ein zu dem Fängerprotein 206 komplementäres nachzuweisendes Molekül 207 ankoppelbar ist. Die in **Fig. 2** gezeigten Fängerproteine 206 sind DNA-Halbstrände. Jedes nachzuweisende Molekül 207 weist einen Fluoreszenzmarker 208 auf.

Die Fluoreszenzmarker 208 sind derart eingerichtet, dass die Fluoreszenzmarker 208 elektromagnetische Strahlung eines
30 dritten Wellenlängenbereichs absorbieren und nach erfolgter Absorption elektromagnetische Strahlung eines vierten Wellenlängenbereichs emittieren. Der in **Fig. 2** gezeigte Fluoreszenzmarker 208 ist Coumarin. In das in **Fig. 4** gezeigte Diagramm ist das Emissionsspektrum von Coumarin
35 eingezeichnet, nachdem der Fluoreszenzfarbstoff Coumarin mit elektromagnetischer Strahlung der Wellenlänge 370 Nanometer angeregt worden ist. Man erkennt eine relativ breite

Absorptionsbande mit einem Maximum nahe 460 Nanometer. Dieses Emissionsspektrum entspricht gemäß dem beschriebenen Ausführungsbeispiel dem oben definierten vierten Wellenlängenbereich.

5

Wie in **Fig. 2** gezeigt, ist der Oberflächenbereich des Fluoreszenz-Biosensorchips 200 nicht nur mit nachzuweisenden Molekülen 207, die mit einem Fluoreszenz-Marker 208 gekoppelt sind, in Wirkkontakt. Ferner sind auch Moleküle 209 in

10 Wirkkontakt mit den Fängermolekülen 206 auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht 204. Diese Moleküle 209 sind ebenfalls mit Fluoreszenzmarkern 210 gekoppelt, die sich

15 allerdings von den mit den nachzuweisenden Molekülen 207 gekoppelten Fluoreszenzmarkern 208 dahingehend unterscheiden,

15 dass die Fluoreszenzmarker 210 in anderen Wellenlängenbereichen absorbieren bzw. fluoreszieren als die Fluoreszenzmarker 208 der nachzuweisenden Moleküle 207. Im Unterschied zu den nachzuweisenden Molekülen 207, die zu den Fängermolekülen 206 komplementär sind und infolgedessen an

20 die Fängermoleküle angelagert sind, sind die Moleküle 209 zu den Fängermolekülen 206 nicht komplementär und daher nicht in der Lage, mit den Fängermolekülen 206 zu hybridisieren. Diese Betrachtung zeigt, dass der Nachweis von Molekülen mittels Anlagerns an die Fängermoleküle 206 sehr selektiv erfolgt.

Wären die Moleküle 210 zu den Fängermolekülen 206 komplementär, so würden nur die Moleküle 210 mit den Fängermolekülen 206 hybridisieren, wohingegen die nachzuweisenden Moleküle 208 mit den Fängermolekülen 206 in diesem alternativen Falle nicht hybridisieren würden. Die

30 Entscheidung, ob die Moleküle 207 oder die Moleküle 209 an den Fängermolekülen 206 anlagern, kann mittels Analyse der Wellenlänge des Fluoreszenzlichts der Fluoreszenzmarker 208 oder 210 bestimmt werden.

35 Im Weiteren wird die Funktionalität des Fluoreszenz-Biosensorchips 200 beschrieben. Der Fluoreszenz-Biosensorchip 200 wird mit einer Lösung in Kontakt gebracht, welche unter

anderem die nachzuweisenden Moleküle 207 mit daran über Linker-Moleküle gekoppelten Fluoreszenzmarkern 208 enthält. Zu den Fänger-Molekülen 206 komplementäre Moleküle 207 hybridisieren mit den Fänger-Molekülen 206. Gegebenenfalls 5 wird ein geeigneter Spül- bzw. Wasch-Schritt durchgeführt. Das Hybridisierungsereignis ist mittels Einstrahlung von elektromagnetischer Strahlung des dritten Wellenlängenbereichs, in dem die Fluoreszenzmarker 208 absorbieren, nachweisbar.

10

Nach erfolgter Absorption reemittieren die Fluoreszenzmarker 208 Licht eines vierten Wellenlängenbereichs, wobei das reemittierte Licht langwelliger ist als das absorbierte Licht. Sowohl das eingestrahlte Licht als auch das 15 Fluoreszenzlicht treten durch die im Wesentlichen transparente Immobilisierungs-Schicht 204 hindurch und gelangen zu der optischen Filterschicht 203.

20

Die als organisches Kantenfilter ausgestaltete optische Filterschicht 203 ist als Sperrfilter für die anregende Lichtwellenlänge (dritter Wellenlängenbereich) ausgeführt. Das heißt, das Licht der eingestrahlten Wellenlänge wird von der optischen Filterschicht 203 im Wesentlichen vollständig absorbiert, wohingegen das Fluoreszenzlicht des vierten Wellenlängenbereichs durch die optische Filterschicht 203 im Wesentlichen ungeschwächt transmittiert wird.

30

Nach dem Hindurchtreten durch die im Wesentlichen transparente Schaltkreis-Schicht 205 gelangt das Fluoreszenzlicht vorzugsweise zu derjenigen der Photodioden 202, die im Wesentlichen unterhalb desjenigen Fluoreszenzmarkers 208 angeordnet ist, von welchem das Fluoreszenzlicht emittiert wurde. Die Photodioden 202 sind derart eingerichtet, dass damit elektromagnetische Strahlung des ersten Wellenlängenbereichs detektierbar ist. Indem die Fluoreszenzmarker 208 derart eingerichtet sind, dass zumindest ein Teil des vierten Wellenlängenbereichs

35

(derjenige Wellenlängenbereich, in dem die Fluoreszenzstrahlung liegt) innerhalb des ersten Wellenlängenbereichs liegt, ist die Photodiode 202 imstande, das Fluoreszenzlicht nachzuweisen. Dadurch wird einerseits

5 ein Hybridisierungseignis nachgewiesen, andererseits ist die Intensität des nachgewiesenen Fluoreszenzlichtes ein Maß für die Zahl der angelagerten Moleküle, d.h. für den Grad der Komplementarität zwischen Fängermolekülen 206 und nachzuweisenden Molekülen 207.

10

Licht der anregenden Wellenlänge gelangt nicht durch die optische Filterschicht 203 und ist daher nicht in den Photodioden 202 nachweisbar. Dadurch ist erfindungsgemäß eine Trennung des Fluoreszenzlichtes von dem anregenden Licht

15 mittels der optischen Filterschicht 203 ermöglicht. Da Photodioden 202 einen sehr hohen Dynamikbereich aufweisen, ist bei dem erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchip eine hohe Nachweisempfindlichkeit erreichbar. Unter einem hohen Dynamikumfang wird verstanden, dass von dem Detektor 20 elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung eines großen 20 Intensitätsbereichs messbar ist.

Die Ortsauflösung des Fluoreszenz-Biosensorchips 200 wird nicht, wie gemäß dem Stand der Technik, mittels einer Linsenoptik erzielt, sondern mittels elektrischer Auswahl eines Sensorbereiches auf der Immobilisierungs-Schicht 204, die im Wesentlichen oberhalb einer bestimmten Photodiode 202 angeordnet ist.

30 Wie in **Fig. 2** gezeigt, ist ein Oberflächenabschnitt 211 der Immobilisierungs-Schicht 204 frei von Fängermolekülen 206, sodass an der mindestens einen unterhalb dieses Oberflächenabschnittes 211 angeordneten Referenz-Detektions-Einrichtung 202a, ein Rauschsignal abnehmbar ist. Da oberhalb 35 der Referenz-Detektions-Einrichtung 202a keine Fängermoleküle auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht 204 immobilisiert sind, können sich in diesem

Oberflächenabschnitt 211 auch keine nachzuweisenden Moleküle 207 anlagern, sodass in diesem Oberflächenabschnitt 211 keine Fluoreszenzmarker 208 angeordnet sind. Daher gelangt keine Fluoreszenzstrahlung auf die Referenz-Detektions-Einrichtung 202a. Hinsichtlich der parasitären, auf die Detektions-Einrichtungen 202, 202a einfallenden elektromagnetischen Strahlung (beispielsweise anregendes Licht oder Streulicht aus der Umgebung) gilt für die Referenz-Detektions-Einrichtung 202a das Gleiche wie für die Detektions-Einrichtungen 202. Daher ist an der Referenz-Detektions-Einrichtung 202a dasjenige Rauschsignal oder Untergrundsignal oder Nullsignal abnehmbar, das von der parasitären elektromagnetischen Strahlung herrührt, und das von den Signalen aller anderen Detektions-Einrichtungen 202 abzuziehen ist, um ein Signal zu erhalten, das der Intensität des Fluoreszenzlichtes proportional ist. Diese Subtraktion wird mittels einer elektronischen Differenzschaltung durchgeführt.

Bezugnehmend auf **Fig. 3** wird ein Fluoreszenz-Biosensorchip 300 gemäß einem zweiten Ausführungsbeispiel der Erfindung beschrieben.

Der Fluoreszenz-Biosensorchip 300 weist ein Substrat 301, eine in dem Substrat angeordnete Detektions-Einrichtung 302 zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung, eine auf dem Substrat 301 angeordnete optische Filterschicht 303 und eine auf der optischen Filterschicht 303 angeordnete Immobilisierungs-Schicht 304 zum Immobilisieren von Fänger-Molekülen auf. Die Detektions-Einrichtung 302, die Filterschicht 303 und die Immobilisierungs-Schicht 304 sind in dem Fluoreszenz-Biosensorchip 300 integriert.

Die Funktionalität des Fluoreszenz-Biosensorchips 300 entspricht weitgehend dem des Fluoreszenz-Biosensorchips 200, der oben bezugnehmend auf **Fig. 2** beschrieben ist. Daher wird an dieser Stelle nur auf diejenigen Merkmale eingegangen, die

in der Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung 300 abweichend von der Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung 200 ausgestaltet sind.

- 5 So ist die optische Filterschicht 303 abweichend von der in **Fig. 2** gezeigten optischen Filterschicht 203 als Bandfilter ausgebildet. Der genaue Aufbau der optischen Filterschicht 303 wird weiter unten bezugnehmend auf **Fig. 4** beschrieben.
- 10 Die Detektions-Einrichtung 302 ist wie in **Fig. 3** gezeigt als Photodiode 302 ausgebildet, die in das Substrat 301 integriert ist. Wie in **Fig. 3** gezeigt, sind in das Substrat 301 weitere integrierte Schaltkreiselemente 304 eingebracht. Der Siliziumdioxid-Bereich 304a dient zum elektrischen
- 15 Isolieren benachbarter Photodioden 302. Die n-dotierten Siliziumbereiche 304b, 304c sind Teil der Ansteuerelektronik, mit der eine bestimmte Photodiode 302 ansteuerbar ist. Das Substrat 301 ist ein p-dotiertes Silizium-Substrat.
- 20 Darüber hinaus ist eine Schaltkreis-Schicht 306 zwischen dem Substrat 301 und der optischen Filterschicht 303 angeordnet, wobei in die Schaltkreis-Schicht 306 mindestens ein elektrisches Bauelement 306a integriert ist, und wobei die Schaltkreis-Schicht 306 mit der Detektions-Einrichtung 302 elektrisch gekoppelt ist.

Wie in **Fig. 3** gezeigt, bilden die integrierten Schaltkreiselemente 306a gemeinsam mit den n-dotierten Silizium-Bereichen 304b, 304c und dem p-dotierten Silizium-

- 30 Substrat 301 eine transistorähnliche Anordnung aus, wobei mittels dieser transistorähnlichen Anordnung die Detektions-Einrichtung 302 elektrisch ansteuerbar ist.

Auf der Immobilisierungs-Schicht 305 sind eine Vielzahl von Fängermolekülen immobilisiert, von denen in **Fig. 3** aus Gründen der Einfachheit nur ein Fängermolekül 307 eingezeichnet ist. Das in **Fig. 3** gezeigte Fängermolekül 307

ist ein DNA-Halbstrang, dessen Basen 307a in **Fig. 3** schematisch eingezeichnet sind.

An das Fänger-**molekül 307** ist ein zu dem Fänger-**molekül 307** 5 komplementäres nachzuweisendes **Molekül 308** angekoppelt. Das nachzuweisende **Molekül 308** weist einen Fluoreszenzmarker 309 auf. Bei dem Fänger-**molekül 307** und bei dem nachzuweisenden **Molekül 308** handelt es sich um zwei zueinander komplementäre DNA-Halbstränge.

10

Unter nochmaliger Bezugnahme auf **Fig. 3** wird im Weiteren 15 erläutert, auf welche Weise mittels des Fluoreszenz-Biosensorchips 300 ein Hybridisierungsergebnis nachweisbar ist.

15

Elektromagnetische Strahlung eines dritten Wellenlängenbereichs 310, die beispielsweise von einer externen elektromagnetischen Strahlungsquelle (nicht gezeigt in **Fig. 3**) bereitgestellt ist, trifft auf den 20 Fluoreszenzmarker 309 und wird von diesem teilweise absorbiert. Der Fluoreszenzmarker 309 reemittiert elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung eines vierten Wellenlängenbereichs 311, wobei ein Teil der emittierten

Fluoreszenzstrahlung auf den Fluoreszenz-Biosensorchip 300 gelangt. Die elektromagnetische Strahlung des vierten Wellenlängenbereichs 311 trifft auf die Filterschicht 303, die derart eingerichtet ist, dass die elektromagnetische Strahlung des vierten Wellenlängenbereichs 311 zumindest teilweise durch die Filterschicht 303 transmittiert wird.

30

Dieser Teil gelangt, wie in **Fig. 3** gezeigt, zu der Photodiode 302 und wird dort erfasst. Die elektromagnetische Strahlung des vierten Wellenlängenbereichs 310 wird größtenteils an der optischen Filterschicht 303 reflektiert. Dadurch gelangt im Idealfall keine elektromagnetische Strahlung des dritten

35

Wellenlängenbereichs 310 auf die Photodiode 302. Somit ist es erfindungsgemäß realisiert, dass ausschließlich nachzuweisendes Fluoreszenzlicht des vierten

Wellenlängenbereichs 311 bis zu der Detektions-Einrichtung 302 vordringt, wohingegen das Primärlicht des dritten Wellenlängenbereichs 310 nicht bis zu der Detektions-Einrichtung 302 vordringt.

5

Im Weiteren wird beschrieben, wie die optische Filterschicht 303 gemäß einem bevorzugten Ausführungsbeispiel ausgestaltet ist. Die optische Filterschicht 303 ist als Bandfilter ausgestaltet, das ein dielektrischer Interferenzfilter mit einer Schichtenfolge aus zwei Materialien ist, wobei ein erstes Material einen hohen Brechungsindex und ein zweites Material einen niedrigen Brechungsindex aufweist. Das erste Material mit einem hohen Brechungsindex ist Siliziumnitrid, und das zweite Material mit einem niedrigen Brechungsindex ist Siliziumdioxid. Das dielektrische Interferenzfilter gemäß dem beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiel weist 31 alternierende Schichten aus abwechselnd Siliziumdioxid und Siliziumnitrid auf. Das vorliegende dielektrische Interferenzfilter wird durch folgende Nomenklatur beschrieben:

0,5H; L; (HL)¹⁴; 0,5H

Diese Nomenklatur ist wie folgt zu lesen:

Mit „H“ ist eine Schicht aus dem hochbrechenden Material (d.h. aus einem Material mit einem hohen Brechungsindex), im Beispiel Siliziumnitrid, bezeichnet. Mit „L“ ist eine Schicht aus dem niederbrechenden Material mit einem kleinen Brechungsindex bezeichnet, im vorliegenden Fall Siliziumdioxid. Mit der hochgestellten Zahl 14 ist angezeigt, dass 14 alternierende Doppelschichten aus abwechselnd der hochbrechenden und niederbrechenden Schicht vorgesehen sind. Die Schichtdicken sind in Vielfachen von $\lambda/4$ (λ : Lichtwellenlänge im Medium) angegeben. Mit $\lambda/4$ ist der vierte Teil der Lichtwellenlänge im Medium gemeint, d.h. der Quotient aus der Lichtwellenlänge im Vakuum und dem Brechungsindex des jeweiligen Mediums. Mit anderen Worten

weist die erfindungsgemäße Filterschicht eine $\lambda/8$ -Schicht des hochbrechenden Materials, eine $\lambda/4$ -Schicht des niederberechenden Material, 14 Doppelschichten, wobei jede der Doppelschichten aus einem $\lambda/4$ -Plättchen des hochbrechenden

5 Materials und einem $\lambda/4$ -Plättchen des niederberechenden Materials aufgebaut ist, sowie eine $\lambda/8$ -Schicht des hochbrechenden Materials auf. Dadurch wird ein Interferenzfilter mit einer Wellenlängenabhängigkeit der Transmission, wie sie in **Fig. 4** gezeigt ist, erhalten. Wie in
10 **Fig. 4** gezeigt, reflektiert ein derartig ausgestalteter dielektrischer Interferenzfilter elektromagnetische Strahlung in dem Wellenlängenbereich zwischen 350 Nanometer und 390 Nanometer zu mehr als 99%. Insbesondere ist die Wellenlänge des Reflektionsmaximums, d.h. des Transmissionssminimums in
15 **Fig. 4**, bei einem festgelegten Einfallswinkel der elektromagnetischen Strahlung mittels Justage der Schichtdicke der Einzelschichten des dielektrischen Interferenzfilters einstellbar. Da die berechnete Transmission in Abhängigkeit der Wellenlänge, wie sie in **Fig.**
20 **4** dargestellt ist, in einem relativ breiten Wellenlängenbereich zwischen 350 Nanometer und 390 Nanometer ein ausgeprägtes Transmissionssminimum aufweist, ist ein derartiges Filter auch zum Unterdrücken des anregenden Lichtes breitbandiger Anregungsquellen wie z.B. Leuchtdioden geeignet. Sollen spektral noch breitere Lichtquellen verwendet werden, die beispielsweise auch bei Lichtwellenlängen unterhalb der linken Flanke bei 350 Nanometer elektromagnetische Strahlung emittieren, so ist ein zusätzliches Filter erforderlich, um elektromagnetische
30 Strahlung im unteren Wellenlängenbereich wegzufiltern. Dies kann beispielsweise mittels eines geeigneten Kantenfilters realisiert sein.

In das in **Fig. 4** gezeigte Diagramm ist als gestrichelte Linie
35 auch das Emissionsspektrum von Coumarin eingezeichnet, wie es nach einer Anregung des Farbstoffes mit elektromagnetischer Strahlung der Wellenlänge 370 Nanometer erhalten wird.

Wenn gleich das Emissionsspektrum von Coumarin relativ breitbandig ist, so ist doch die linke Flanke des Emissionsspektrums von Coumarin deutlich langwelliger, als die rechte Grenze desjenigen Wellenlängenbereichs, in dem das oben beschriebene optische Filter annähernd totalreflektiert. Der langwellige Durchlassbereich des dielektrischen Interferenzfilters ist möglichst flach zu gestalten, d.h. es ist besonders günstig, über den gesamten Fluoreszenzbereich des Farbstoffs hinweg eine annähernd konstante und möglichst hohe Transmission zu gewährleisten. Dies kann mittels Variation der Schichtdicken der dielektrischen Filterschicht sowie der dafür verwendeten Materialien geschehen. Das beschriebene dielektrische Interferenzfilter ist für den erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchip geeignet, wenn als Fluoreszenzmarker Coumarin verwendet wird. Unter nochmaliger Bezugnahme auf **Fig. 4** ist die Transmission des beschriebenen dielektrischen Interferenzfilters oberhalb etwa 415 Nanometer größer als 75%, oberhalb von 450 Nanometer größer als 92%. Dadurch wird das Fluoreszenzlicht des Farbstoffes Coumarin beim Durchgang durch die optische Filterschicht nur wenig geschwächt. Es ist nochmals zu betonen, dass für die Funktionalität des dielektrischen Interferenzfilters eine möglichst große Flankensteilheit (also ein möglichst sprunghafter Anstieg von einer Transmission Null auf eine Transmission eins) vorteilhaft ist, um das Anregungslicht gut zu unterdrücken und das Emissionsspektrum möglichst geringfügig zu dämpfen.

Im Weiteren wird der in **Fig. 5A**, **Fig. 5B** gezeigte Fluoreszenz-Biosensorchip 500 beschrieben.

In **Fig. 5A** ist eine Draufsicht auf den Fluoreszenz-Biosensorchip 500 gezeigt, und in **Fig. 5B** ist eine Querschnittsansicht eines Teils des in **Fig. 5A** gezeigten Fluoreszenz-Biosensorchips 500 entlang der Schnittlinie I-I' gezeigt. Der in **Fig. 5A**, **Fig. 5B** gezeigte Fluoreszenz-Biosensorchip 500 ist ein drittes bevorzugtes

Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Fluoreszenz-Biosensorchips und unterscheidet sich nur hinsichtlich einiger Aspekte von den zuvor beschriebenen Fluoreszenz-Biosensorchips 200, 300. Im Weiteren wird nicht die komplette 5 Funktionalität des Fluoreszenz-Biosensorchips 500 erläutert, vielmehr wird nur auf die ergänzenden Merkmale verglichen mit den zuvor beschriebenen Ausführungsbeispielen schwerpunktmäßig eingegangen.

10 In **Fig. 5B** ist ein Fluoreszenz-Biosensorchip 500 mit einem Substrat 501, mindestens einer in oder auf dem Substrat 501 angeordneten Detektions-Einrichtung 502 zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung, einer auf dem Substrat 501 angeordneten optischen Filterschicht 503 und einer auf der 15 optischen Filterschicht 503 angeordneten Immobilisierungs-Schicht 505 zum Immobilisieren von Fänger-Molekülen gezeigt. Die Detektions-Einrichtungen 502, die optische Filterschicht 503 und die Immobilisierungs-Schicht 505 sind in dem Fluoreszenz-Biosensorchip 500 integriert.

20 Das Substrat 501 ist ein p-dotiertes Silizium-Substrat. Die Detektions-Einrichtungen 502 sind in das Substrat 501 integrierte Silizium-Photodioden. Die optische Filterschicht 503 ist gemäß dem bezugnehmend auf **Fig. 5A, Fig. 5B** beschriebenen Ausführungsbeispiel ein dielektrisches Interferenzfilter. Die Immobilisierungs-Schicht 505 ist eine dünne Goldschicht. Neben den Silizium-Photodioden 502 sind in das Substrat 501 Siliziumdioxid-Bereiche 504 eingebracht.

30 Zwischen dem Substrat 501 und der optischen Filterschicht 503 ist ferner eine Schaltkreis-Schicht 504 angeordnet, wobei in die Schaltkreis-Schicht 504 mindestens ein elektrisches Bauelement 506a integriert ist und wobei die Schaltkreis-Schicht 504 mit der mindestens einen Detektions-Einrichtung 35 502 elektrisch gekoppelt ist. Diese Kopplung ist in **Fig. 5B** explizit gezeigt. Die integrierten Schaltkreiselemente 506a, die in **Fig. 5B** eingezeichnet sind, sind elektrisch leitfähige

Verbindungsmittel, die eine Ankopplung der Silizium-Photodioden 502 an eine Ansteuerelektronik ermöglichen.

Der Fluoreszenz-Biosensorchip 500 weist ferner eine Vielzahl von Fängermolekülen 507 auf, die mit der Immobilisierungs-Schicht 505 gekoppelt sind, und die derart eingerichtet sind, dass an die Fängermoleküle 507 ein zu dem Fängermolekül 507 komplementäres nachzuweisendes Molekül 508 ankoppelbar ist.

5 Mit der Bezugsziffer 507a sind die einzelnen Basen bezeichnet, welche die als DNA-Halbstrang ausgebildeten Fängermoleküle 507 aufweisen. Wie in **Fig. 5B** gezeigt, sind zu den DNA-Halbsträngen 507 komplementäre nachzuweisende Moleküle 508, ebenfalls DNA-Halbstränge, an Fängermolekülen 15 507 angelagert. Da auch die nachzuweisenden Moleküle 508 DNA-Halbstränge sind, weisen auch die nachzuweisenden Moleküle 508 einzelne Basen 508a auf. An den nachzuweisenden Molekülen 508 sind Fluoreszenzmarker 509 angekoppelt.

20 Darüber hinaus ist in mindestens einen Oberflächenbereich des Fluoreszenz-Biosensorchips 500 mindestens ein Isolations-Grab 510 zum optischen Isolieren benachbarter Detektions-Einrichtungen 502 eingebracht, welcher mindestens eine Isolations-Grab 510 sich durch die Immobilisierungs-Schicht 505 hindurch bis in einen Bereich der optischen Filterschicht 503 hinein erstreckt, derart, dass unterhalb jedes Bereichs zwischen zwei benachbarten Isolations-Gräben 510 jeweils eine Detektions-Einrichtung 502 angeordnet ist. Wie in **Fig. 5B** gezeigt, ist der mindestens eine Isolations-Grab 510 mit 30 einer Schicht aus einem absorbierenden Material 511 bedeckt, wobei das absorbierende Material 511 derart eingerichtet ist, dass es elektromagnetische Strahlung absorbiert.

35 Die Funktionalität des Isolations-Grabens 510 und des in dem Isolations-Grab 510 eingebrachten absorbierenden Materials 511 wird im Folgenden bezugnehmend auf **Fig. 5B** und insbesondere die darin schematisch eingezeichnete

elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 512, die von dem in **Fig. 5B** links angeordneten Fluoreszenzmarker 509 ausgesandt wird, erläutert. Wie oben angesprochen, entsprechen die verschiedenen Detektions-Einrichtungen 502 in dem Substrat 5 501 den Sensorpixeln auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht 505. Anschaulich gehören all diejenigen auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht 505 immobilisierten Fängermoleküle 507 zu derjenigen Detektions-Einrichtung 502, die im Wesentlichen unterhalb dieses Fängermoleküls 507 10 angeordnet ist. So ist bezugnehmend auf **Fig. 5B** die linke Detektions-Einrichtung 502 zum Nachweis von Fluoreszenzstrahlung vorgesehen, die von dem linken auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht 505 immobilisierten Fängermolekül 507 ausgeht. Und die rechte in **Fig. 5B** gezeigte 15 Detektions-Einrichtung 502 dient dem Nachweis von Fluoreszenzstrahlung, die von einem Fluoreszenzmarker 509 herrührt, der an ein nachzuweisendes Molekül 508 gebunden ist, welches nachzuweisende Molekül 508 an ein Fängermolekül 507 angedockt ist, das sich im Wesentlichen oberhalb der 20 rechten Detektions-Einrichtung 502 befindet.

Wie in **Fig. 5B** gezeigt, wird von dem linken Fluoreszenzmarker 509 elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 512 ausgesendet. Gemäß dem oben Gesagten sollte diese Fluoreszenzstrahlung, 5 die eine indirekte Folge eines Hybridisierungereignisses an dem linken auf der Oberfläche der Immobilisierungs-Schicht 505 angeordneten Fängermoleküls 507 ist, von der linken Detektions-Einrichtung 502 nachgewiesen werden. Die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 512 wird aber in eine 30 derartige Richtung ausgesendet, dass diese nicht auf die linke in **Fig. 5B** gezeigte Detektions-Einrichtung 502, sondern eher in Richtung der rechten Detektions-Einrichtung 502 abgestrahlt wird. Würde die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 512 von der rechten Detektions- 35 Einrichtung 502 nachgewiesen, so würde dies die Messung verfälschen.

Dieses Phänomen wird als optisches Übersprechen zwischen zwei benachbarten Sensorfeldern, die zu der linken bzw. der rechten Detektions-Einrichtung 502 gehören, bezeichnet. Mit dem teilweise mit dem absorbierenden Material 511 gefüllten Isolations-Graben 510 ist erreicht, dass das unerwünschte Phänomen des optischen Übersprechens vermindert ist.

Wie in **Fig. 5B** gezeigt, wird die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 512 zwar in Richtung der rechten in **Fig. 5B** gezeigten Silizium-Photodiode 502 ausgesandt, jedoch muss diese elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 512 auf dem Weg zu der rechten Silizium-Photodiode 502 den Isolations-Graben 510 und das darin teilweise eingefüllte absorbierende Material 511 durchlaufen. Das absorbierende Material 511 ist derart eingerichtet, dass dadurch elektromagnetische Strahlung insbesondere in dem Wellenlängenbereich der Fluoreszenzstrahlung der verwendeten Fluoreszenzmarker 509 absorbiert wird. Dadurch wird die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 512 in dem absorbierenden Material 511 in dem Isolations-Graben 510 absorbiert und kann daher nicht zu der rechten in **Fig. 5B** gezeigten Detektions-Einrichtung 502 gelangen. Dadurch ist optisches Übersprechen zwischen benachbarten Sensorfeldern vermindert.

Wie jedoch in **Fig. 5B** gezeigt ist, kann mittels der mit einem absorbierenden Material 511 gefüllten Isolations-Gräben 510 nicht vollständig optisches Übersprechen verhindert werden. Diesbezüglich sei auf die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 513 verwiesen, die von dem rechten in **Fig. 5B** gezeigten Fluoreszenzmarker 509 ausgesendet wird. Die Fluoreszenzstrahlung 513 wird ebenfalls nicht in Richtung der im Wesentlichen darunter liegenden Detektions-Einrichtung 502 ausgesendet, sondern eher in Richtung der links des Fluoreszenzmarkers 509 angeordneten Detektions-Einrichtung 502. Aufgrund der in **Fig. 5B** gezeigten geometrischen Gegebenheiten wird die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 513 nicht von dem absorbierenden

Material 511 in dem Isolations-Graben 510 absorbiert. Diese Ausführungen zeigen, dass der Isolations-Graben 510 und das absorbierende Material 511 allein optisches Übersprechen nicht in jedem Falle vollständig unterbinden.

5

Um optisches Übersprechen weiter zu vermindern, ist in mindestens einem Bereich der Schaltkreis-Schicht 504 eine Barrièreschicht 514 aus einem absorbierenden Material angeordnet, derart, dass unterhalb jedes Bereichs zwischen zwei benachbarten Barrièreschichten 514 jeweils eine Detektions-Einrichtung 502 angeordnet ist, wobei das absorbierende Material derart eingerichtet ist, dass es elektromagnetische Strahlung absorbiert. Die Barrièreschicht 514 absorbiert die elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung 513. Dadurch ist mittels der Barrièreschicht 514 das nachteilige Phänomen des optischen Übersprechens vermindert. Es ist diesbezüglich darauf hinzuweisen, dass auch die integrierten Schaltkreiselemente 506a neben ihrer elektronischen Funktionalität (beispielsweise als elektrisch leitfähige Verbindungsmittel) auch die Funktion der absorbierenden Barrièreschicht 514 mitübernehmen können. Dazu sind die integrierten Schaltkreiselemente 506a aus einem elektromagnetische Strahlung absorbierenden und/oder reflektierenden Material herzustellen. Die integrierten Schaltkreiselemente 506a können also eine Doppelfunktion wahrnehmen: Einerseits können sie als elektronische Schaltkreiselemente dienen, andererseits können sie dazu beitragen, das Phänomen des optischen Übersprechens zu vermindern.

30

In **Fig. 5A** ist eine Draufsicht auf den Fluoreszenz-Biosensorchip 500 gemäß dem beschriebenen Ausführungsbeispiel der Erfindung gezeigt. Insbesondere ist der Isolations-Graben 510, der gemäß dem gezeigten Ausführungsbeispiels als zusammenhängender Isolationsbereich ausgestaltet ist, in **Fig. 5A** gezeigt. Ferner sind die einzelnen Sensorfelder 515, 516, die durch die Bereiche zwischen den Isolations-Gräben

510 definiert sind, und die mit Fänger molekülen 507 belegt sind, in **Fig. 5A** gezeigt. Insbesondere sind die Sensorfelder 515 und 516 gezeigt, die in **Fig. 5B** als vergrößerter Querschnitt entlang der Schnittlinie I-I' gezeigt sind.

5

Im Folgenden wird das Schaltschema zum Ansteuern und Abtasten jeder einzelnen der Detektions-Einrichtungen gemäß einem bevorzugten Ausführungsbeispiel des Fluoreszenz-Biosensorchips 600 beschrieben, der in **Fig. 6A** schematisch in Draufsicht gezeigt ist. In **Fig. 6A** ist eine im Wesentlichen matrixförmige Anordnung von Sensorfeldern 601 gezeigt. Dabei entspricht die in **Fig. 6A** gewählte Darstellung im Wesentlichen der Darstellung des Fluoreszenz-Biosensorchips 500 in **Fig. 5A**. In **Fig. 5A** nicht gezeigt und in **Fig. 6A** im Detail gezeigt ist die Schaltungstechnik, mittels derer jedes einzelne der Sensorfelder 601 des Fluoreszenz-Biosensorchips 600 ansteuerbar ist. Die Ansteuerbarkeit einer bestimmten Zeile und die Ansteuerbarkeit einer bestimmten Spalte der matrixförmig angeordneten Sensorfelder 601 ist mittels der Ansteuerschaltung 602 realisiert.

Mittels der Ansteuerschaltung 602 ist mittels der Zeilenauswahl-Leitungen 603 und der Spaltenauswahl-Leitungen 604 jedes einzelne Sensorfeld 601 ansteuerbar.

Es ist zu betonen, dass die Zahl der Zeilenauswahl-Leitungen 603 (im Beispiel sechs) und der Spaltenauswahl-Leitungen 604 (im Beispiel sechs) von der Anzahl der Sensorfelder 601 abhängt. Ist die Zahl der Spalten des Sensorfeldes gleich 2^m , so sind $2m$ Zeilenauswahl-Leitungen 603 erforderlich. Ist die Zahl der Spalten der Sensorfelder 601 gleich 2^n , so sind zum sequentiellen Ansteuern aller Spalten $2n$ Spaltenauswahl-Leitungen 604 erforderlich.

35 Im in **Fig. 6A** gezeigten Beispiel sind $8 = 2^3$ Zeilen und $8 = 2^3$ Spalten von Sensorfeldern 601 gezeigt, sodass $6 = 2 \times 3$

Zeilenauswahl-Leitungen 603 und $6 = 2 \times 3$ Spaltenauswahl-Leitungen 604 vorgesehen sind.

Wie in **Fig. 6A** gezeigt, sind die einzelnen Zeilenauswahl-

5 Leitungen 603 voneinander teilweise abhängig. Die Zeilenauswahl-Leitungen 603 sind mit Z_1 , \bar{Z}_1 , Z_2 , \bar{Z}_2 , Z_3 und \bar{Z}_3 bezeichnet. Dies bedeutet, dass wenn das Signal der Zeilenauswahl-Leitung Z_1 auf einem logischen Wert „1“ ist, das Signal der Zeilenauswahl-Leitung \bar{Z}_1 auf einem logischen Wert „0“ ist. Und wenn das Signal der Zeilenauswahl-Leitung Z_1 auf einem logischen Wert „0“ ist, ist das Signal der Zeilenauswahl-Leitung \bar{Z}_1 auf einem logischen Wert „1“. Die Signale an Z_1 und an \bar{Z}_1 liegen also immer auf zueinander entgegengesetzten logischen Werten. Analog liegen auch die Zeilenauswahl-Leitungen 603 Z_2 und \bar{Z}_2 auf zueinander 10 komplementären Werten. Auch die Zeilenauswahl-Leitungen 603 Z_3 und \bar{Z}_3 liegen auf zueinander komplementären Werten. Dasselbe gilt für die Spaltenauswahl-Leitungen 604, die mit S_1 , \bar{S}_1 , S_2 , \bar{S}_2 , S_3 und \bar{S}_3 bezeichnet sind. Die Signale an S_1 15 und \bar{S}_1 liegen stets auf zueinander komplementären logischen Werten, die Signale an S_2 und \bar{S}_2 liegen stets auf zueinander komplementären Werten und die Signale an S_3 und \bar{S}_3 liegen stets auf zueinander komplementären Werten.

20 5 Jedes der Sensorfelder 601 ist mit drei der gemäß dem in **Fig. 6A** gezeigten Ausführungsbeispiel sechs Zeilenauswahl-Leitungen 603 gekoppelt und ist mit drei der gemäß dem in **Fig. 6A** gezeigten Ausführungsbeispiel sechs Spaltenauswahl-Leitungen 604 gekoppelt.

30 30 Im Folgenden wird exemplarisch erläutert, wie das in **Fig. 6A** gezeigte ausgewählte Sensorfeld 601a mittels der gezeigten Ansteuerschaltung 602 ansteuerbar ist.

35 35 Wie in **Fig. 6B** gezeigt, ist das ausgewählte Sensorfeld 601a mit einer ersten, einer zweiten und einer dritten Zeilenauswahl-Leitung 603a, 603b und 603c gekoppelt. Wiederum

bezugnehmend auf **Fig. 6A** ist die erste Zeilenauswahl-Leitung 603a Z_1 , die zweite Zeilenauswahl-Leitung 603b Z_2 und die dritte Zeilenauswahl-Leitung 603c Z_3 . Darüber hinaus ist das ausgewählte Sensorfeld 601a mit einer ersten, einer zweiten und einer dritten Spaltenauswahl-Leitung 604a, 604b, 604c gekoppelt. Bezugnehmend auf **Fig. 6A** sind dies die erste Spaltenauswahl-Leitung 604a S_1 , die zweite Spaltenauswahl-Leitung 604b S_2 und die dritte Spaltenauswahl-Leitung 604c S_3 .

10

Innerhalb des ausgewählten Sensorfeldes 601a ist eine Photodiode 605 angeordnet, die im Wesentlichen einer der in **Fig. 5A** gezeigten Detektions-Einrichtungen 502 entspricht.

15

In **Fig. 6B** ist schematisch mit zwei Pfeilen mit der Bezugsziffer 606 angedeutet, dass die Photodiode 605 derart eingerichtet ist, dass damit elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung nachweisbar ist. Trifft auf die Photodiode 605 elektromagnetische Strahlung 606 ein, so ändern sich die elektrischen Eigenschaften der Photodiode 605 in charakteristischer Art und Weise und es liegt an der Source eines mit der Photodiode 605 gekoppelten ersten Transistors 607a ein elektrisches Signal an. Dieses Signal kann den ersten Transistor 607a nur dann passieren, wenn an dem Gate-Bereich des ersten Transistors 607a ein Spannungssignal anliegt und daher zwischen dem Source-Bereich und dem Drain-Bereich ein leitender Kanal ausgebildet ist, d.h. wenn an der ersten Spaltenauswahl-Leitung 604a ein Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt, also wenn an S_1 ein Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt. Ist dies der Fall, so kann das elektrische Signal der Photodiode 605 von dem Source-Bereich zu den Drain-Bereich des Transistors 607a gelangen und gelangt von dort weiter zu dem Source-Bereich des zweiten Transistors 607b.

35

Das elektrische Signal, das an dem Source-Bereich des zweiten Transistors 607b anliegt, kann nur dann zu dem Drain-Bereich

des zweiten Transistors 607b gelangen, wenn an dem Gate-Bereich des Transistors zweiten 607b ein Spannungssignal anliegt und daher zwischen dem Source-Bereich und dem Drain-Bereich ein leitender Kanal ausgebildet ist, d.h. wenn das an

5 der zweiten Spaltenauswahl-Leitung 604b anliegende elektrische Signal einen logischen Wert „1“ aufweist, also wenn an S2 ein Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt. In diesem Fall gelangt das elektrische Signal von dem Source-Bereich des zweiten Transistors 607b zu dem Drain-Bereich des
10 zweiten Transistors 607b und von dort aus zu dem Source-Bereich des dritten Transistors 607c. Das an dem Source-Bereich des dritten Transistors 607c anliegende elektrische Signal kann nur dann zu dem Drain-Bereich des dritten
15 Transistors 607c gelangen, wenn an dem Gate-Bereich des dritten Transistors 607c ein Spannungssignal anliegt und daher zwischen dem Source-Bereich und dem Drain-Bereich ein leitender Kanal ausgebildet ist, d.h. wenn an der dritten Spaltenauswahl-Leitung 604c und damit an \bar{S}_3 ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt. Ist dies der
20 Fall, so gelangt das elektrische Signal von dem Source-Bereich des dritten Transistors 607c zu dem Drain-Bereich des dritten Transistors 607c und von dort aus zu dem elektrischen Knoten 608. Dadurch ist die das ausgewählte Sensorfeld 601a aufweisende sechste Spalte von Sensorfeldern 601 ausgewählt.
Mit anderen Worten ist die auszuwählende Spalte der Sensorfelder 601 von den an den Spaltenauswahl-Leitungen 603 anliegenden logischen Werten abhängig.

Um das ausgewählte Sensorfeld 601a auszuwählen, ist neben der
30 Auswahl der entsprechenden Spalte von Sensorfeldern 601 auch die Auswahl der korrekten Zeile von Sensorfeldern 601 erforderlich. Im Weiteren wird beschrieben, wie eine Zeile von Sensorfeldern 601 auswählbar ist. Der in Fig. 6B gezeigte elektrische Knotenpunkt 608 ist mit dem Source-Bereich eines
35 vierten Transistors 609a gekoppelt. Das an dem Source-Bereich des vierten Transistors 609a anliegende elektrische Signal kann nur dann zu dem Drain-Bereich des vierten Transistors

609a gelangen, wenn an dem Gate-Bereich des vierten Transistors 609a ein Spannungssignal anliegt und daher zwischen dem Source-Bereich und dem Drain-Bereich ein leitender Kanal ausgebildet ist, d.h. genau dann, wenn an der 5 mit dem Gate-Bereich des vierten Transistors 609a gekoppelten ersten Zeilenauswahl-Leitung 603a ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt, also wenn an Z_1 ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt. Ist dies der Fall, so kann das an dem Source-Bereich des vierten 10 Transistors 609a anliegende elektrische Signal zu dem Drain-Bereich des vierten Transistors 609a gelangen und kann von dort aus zu dem Source-Bereich des fünften Transistors 609b gelangen. Das an dem Source-Bereich des fünften Transistors 609b anliegende elektrische Signal kann genau dann zu dem 15 Drain-Bereich des fünften Transistors 609b gelangen, wenn die mit dem Gate-Bereich des fünften Transistors 609b gekoppelte zweite Zeilenauswahl-Leitung 603b mit einem elektrischen Signal mit einem logischen Wert „1“ belegt ist. Das bedeutet, dass an der mit Z_2 bezeichneten zweiten Zeilenauswahl-Leitung 20 603b ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegen muss. In diesem Falle gelangt das an dem Source-Bereich des fünften Transistors 609b anliegende elektrische Signal zu dem Drain-Bereich des fünften Transistors 609b und von dort aus zu dem Source-Bereich des damit gekoppelten 25 sechsten Transistors 609c. Wiederum kann das an dem Source-Bereich des sechsten Transistors 609c anliegende elektrische Signal nur dann zu dem Drain-Bereich des sechsten Transistors 609c gelangen, wenn an dem Gate-Bereich des sechsten Transistors 609c ein Spannungssignal anliegt und daher 30 zwischen dem Source-Bereich und dem Drain-Bereich ein leitender Kanal ausgebildet ist, d.h. wenn an der dritten Zeilenauswahl-Leitung 603c ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt, also wenn an $\overline{Z_3}$ ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt. Nur in diesem Fall kann das an dem Source-Bereich des sechsten Transistors 609c anliegende elektrische Signal zu dem Drain-Bereich des 35 sechsten Transistors 609c gelangen. Ist auch diese Bedingung

erfüllt, so ist die dem ausgewählten Sensorfeld 601a zugehörige zweite Zeile von Sensorfeldern 601 ausgewählt.

Das ausgewählte Sensorfeld 601a ist also genau dann

5 ausgewählt, wenn an der ersten Spaltenauswahl-Leitung 604a $\bar{S_1}$ und an der zweiten Spaltenauswahl-Leitung 604b S_2 und an der dritten Spaltenauswahl-Leitung 604c $\bar{S_3}$ und an der ersten Zeilenauswahl-Leitung 603a Z_1 und an der zweiten Zeilenauswahl-Leitung 603b Z_2 und an der dritten 10 Zeilenauswahl-Leitung 603c $\bar{Z_3}$ jeweils ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „1“ anliegt. Liegt auch nur an einer der sechs genannten Auswahl-Leitungen 603a, 603b, 15 603c, 604a, 604b, 604c ein elektrisches Signal mit einem logischen Wert „0“ an, so ist das entsprechende Sensorfeld nicht ausgewählt. Sind sowohl Zeile als auch Spalte des ausgewählten Sensorfeldes 601a ausgewählt, so gelangt das von der Photodiode 605 detektierte elektrische Signal zu dem Mittel zum Erfassen des elektrischen Stroms 610 bzw. zu dem Mittel zum Erfassen der elektrischen Spannung 611. Dadurch 20 ist ein bestimmtes ausgewähltes Sensorfeld 601a auswählbar und die Stärke des an der Detektions-Einrichtung 605 des ausgewählten Sensorfeldes 601a anliegenden elektrischen Sensorsignals auslesbar.

5 In Fig. 7 ist ein bevorzugtes Ausführungsbeispiels einer Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung 700 gezeigt, die im Weiteren näher erläutert wird. Die Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung 700 weist einen Fluoreszenz-Biosensorchip 700a und eine elektromagnetische Strahlungsquelle 705 auf. Der 30 Fluoreszenz-Biosensorchip 700a weist ein Substrat 701, sechs in dem Substrat 701 angeordnete Detektions-Einrichtungen 702 zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung eines ersten Wellenlängenbereichs, eine auf dem Substrat 701 angeordnete optische Filterschicht 703 zum Absorbieren und/oder 35 Reflektieren von elektromagnetischer Strahlung eines zweiten Wellenlängenbereichs und eine auf der optischen Filterschicht 703 angeordnete Immobilisierungs-Schicht 704 zum

Immobilisieren von Fänger molekülen auf. Die Detektions-
Einrichtungen 702, die optische Filterschicht 703 und die
Immobilisierungs-Schicht 704 sind in dem Fluoreszenz-
Biosensorchip 700a integriert. Die elektromagnetische

5 Strahlungsquelle 705 ist derart eingerichtet, dass mittels
der elektromagnetischen Strahlungsquelle 705 ein
Oberflächenbereich des Fluoreszenz-Biosensorchip 700a mit
elektromagnetischer Strahlung eines dritten
Wellenlängenbereichs bestrahltbar ist.

10

Wie in **Fig. 7** gezeigt, weist der Fluoreszenz-Biosensorchip
700a eine Schaltkreis-Schicht 706 auf, die zwischen dem
Substrat 701 und der optischen Filterschicht 703 angeordnet
ist.

15

Die elektromagnetische Strahlungsquelle 705 ist ein Laser.

Gemäß dem in **Fig. 7** gezeigten Ausführungsbeispiel der
Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung 700 weist der
20 Fluoreszenz-Biosensorchip 700a eine Vielzahl von
Fänger molekülen 707 auf, die mit der Immobilisierungs-Schicht
704 gekoppelt sind, und die derart eingerichtet sind, dass an
die Fänger moleküle 707 ein zu dem Fänger molekül 707
komplementäres nachzuweisendes Molekül 708 ankoppelbar ist.

25

Jedes nachzuweisende Molekül 708 weist einen
Fluoreszenzmarker 709 auf, der derart eingerichtet ist, dass
er zumindest teilweise elektromagnetische Strahlung des
dritten Wellenlängenbereichs absorbiert und nach erfolgter
Absorption elektromagnetische Strahlung eines vierten

30 Wellenlängenbereichs emittiert. Zumindest ein Teil des
dritten Wellenlängenbereichs liegt außerhalb des vierten
Wellenlängenbereichs und zumindest ein Teil des vierten
Wellenlängenbereichs liegt innerhalb des ersten
Wellenlängenbereichs. Zumindest ein Teil des ersten

35 Wellenlängenbereichs liegt außerhalb des zweiten
Wellenlängenbereichs. Auch sind in **Fig. 7** Moleküle 710 mit
Fluoreszenzmarkern 711 gezeigt, die zu den Fänger molekülen

707 nicht komplementär sind und daher an diese nicht
ankoppeln.

)

)

In diesem Dokument sind folgende Veröffentlichungen zitiert:

[1] WO 99/38612

5 [2] WO 00/12759

[3] WO 99/27140

10 [4] Vo-Dinh, T (1998) "Development of a DNA biochip:
principle and applications" Sensors and Actuators B51:52-
59

15 [5] Kong, SH, Correia, G, de Graaf, G, Bartek, M,
Wolfenbuttel, RF (1998) "CMOS compatible optical sensors
with thin film interference filters : fabrication and
characterization" Workshop on Semiconductor Advances on
Future Electronics SAFE'98, 291-294
(<http://www.stw.nl/programmas/safe/safe98/proceedings/kong.pdf>)

20 [6] US 5 648 653

Patentansprüche

1. Fluoreszenz-Biosensorchip

- mit einem Substrat;
- 5 • mit mindestens einer in oder auf dem Substrat angeordneten Detektions-Einrichtung zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung;
- mit einer auf dem Substrat angeordneten optischen Filterschicht;
- 10 • mit einer auf der optischen Filterschicht angeordneten Immobilisierungs-Schicht zum Immobilisieren von Fängermolekülen;
- wobei die Detektions-Einrichtung, die optische Filterschicht und die Immobilisierungs-Schicht in dem 15 Fluoreszenz-Biosensorchip integriert sind.

2. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 1, bei dem das Substrat aus Silizium-Material hergestellt ist.

20 3. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 1 oder 2, bei dem die mindestens eine Detektions-Einrichtung eine Photodiode aufweist, die derart eingerichtet ist, dass damit elektromagnetische Strahlung eines ersten Wellenlängenbereichs detektierbar ist.

15 4. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 3, bei dem die optische Filterschicht derart eingerichtet ist, dass die optische Filterschicht elektromagnetische Strahlung eines zweiten Wellenlängenbereichs reflektiert und/oder 30 absorbirt, wobei zumindest ein Teil des ersten Wellenlängenbereichs außerhalb des zweiten Wellenlängenbereichs liegt.

35 5. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei dem die optische Filterschicht mindestens ein Bandfilter und/oder mindestens ein Kantenfilter aufweist.

6. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 5,
bei dem das Bandfilter ein dielektrisches Interferenzfilter
mit einer Schichtenfolge aus mindestens zwei Materialien ist,
5 wobei ein erstes Material einen hohen Brechungsindex und ein
zweites Material einen niedrigen Brechungsindex aufweist.

7. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 5,
bei dem das Kantenfilter ein aus einem organischen Material
10 hergestelltes Farbfilter ist.

8. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 6,
bei dem das erste Material eines oder eine Kombination der
chemischen Elemente und Verbindungen

- 15 • Titanoxid
- Siliziumnitrid
- Hafniumoxid
- Zirkoniumoxid
- Aluminiumoxid
- 20 • Poly-Silizium
- Indium-Zinn-Oxid und
- Siliziumdioxid

ist.

9. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 6 bis
8,
bei dem das zweite Material eines oder eine Kombination der
chemischen Elemente und Verbindungen

- Titanoxid
- 30 • Siliziumnitrid
- Hafniumoxid
- Zirkoniumoxid
- Aluminiumoxid
- Poly-Silizium
- 35 • Indium-Zinn-Oxid, und
- Siliziumdioxid

ist.

10. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 1 bis 9,

5 bei dem die Immobilisierungs-Schicht eines oder eine Kombination der Materialien

• Siliziumdioxid

• Siliziumnitrid

• Gold und/oder

10 • organisches Material

aufweist.

11. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 1 bis 10,

15 der ferner eine Schaltkreis-Schicht zwischen dem Substrat und der optischen Filterschicht aufweist,

• wobei in die Schaltkreis-Schicht mindestens ein elektrisches Bauelement integriert ist;

• wobei die Schaltkreis-Schicht mit der mindestens einen 20 Detektions-Einrichtung elektrisch gekoppelt ist.

12. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 11, bei dem die Schaltkreis-Schicht derart eingerichtet ist, dass mittels der Schaltkreis-Schicht die mindestens eine 13 Detektions-Einrichtung elektrisch ansteuerbar ist.

13. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 1 bis 12

mit einer Vielzahl von Fängermolekülen, die mit der

30 Immobilisierungs-Schicht gekoppelt sind, und die derart eingerichtet sind, dass an jedes der Fängermoleküle ein zu dem Fängerprotein komplementäres nachzuweisendes Molekül ankoppelbar ist.

35 14. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 13,

bei dem die Fängermoleküle

• Nukleinsäuren

- Peptide
- Proteine oder
- niedermolekulare Verbindungen

sind.

5

15. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 13 oder 14, bei dem ein Oberflächenabschnitt der Immobilisierungs-Schicht frei von Fänger molekülen ist, so dass an der mindestens einen unterhalb dieses Oberflächenabschnittes angeordneten

10 Detektions-Einrichtung ein Rauschsignal abnehmbar ist.

16. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 13 bis 15,

15 bei dem jedes nachzuweisende Molekül mindestens einen Fluoreszenzmarker aufweist,

- wobei der Fluoreszenzmarker derart eingerichtet ist, dass er elektromagnetische Strahlung eines dritten Wellenlängenbereichs absorbiert und nach erfolgter Absorption elektromagnetische Strahlung eines vierten Wellenlängenbereichs emittiert;
- wobei zumindest ein Teil des dritten Wellenlängenbereichs außerhalb des vierten Wellenlängenbereich liegt;
- wobei zumindest ein Teil des vierten Wellenlängenbereichs innerhalb des ersten Wellenlängenbereichs liegt.

17. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 16, bei dem der Fluoreszenzmarker eines der Materialien

- Coumarin
- FITC
- Cy2
- Alexa Fluor 488
- BODIPY 493
- Rhodamine 123
- R6G
- TET

- JOE
- HEX
- BODIPY 530
- Alexa 532
- 5 • R-Phycoerythrin
- TRITC
- Cy3
- TAMRA
- Texas Red
- 10 • ROX
- BODIPY 630 und
- Cy5

ist.

15 18. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 1 bis
17,
bei dem in mindestens einen Oberflächenbereich des
Fluoreszenz-Biosensorchip mindestens ein Isolations-Graben
zum optischen Isolieren benachbarter Detektions-Einrichtungen
20 eingebbracht ist, welcher mindestens eine Isolations-Graben
sich durch die Immobilisierungs-Schicht hindurch bis in einen
Bereich der optischen Filterschicht hineinerstreckt, derart,
dass unterhalb jedes Bereichs zwischen zwei benachbarten
Isolations-Gräben jeweils eine Detektions-Einrichtung
angeordnet ist.

19. Fluoreszenz-Biosensorchip nach Anspruch 18,
bei dem mindestens ein Teil der Oberfläche des mindestens
einen Isolations-Grabens mit einer Schicht aus einem
30 absorbierenden Material bedeckt ist oder bei dem mindestens
einer der Gräben mit einem absorbierenden Material gefüllt
ist, wobei das absorbierende Material derart eingerichtet
ist, dass es elektromagnetische Strahlung zumindest des
jeweiligen Wellenlängenbereichs bzw. der jeweiligen
35 Wellenlängenbereiche absorbiert oder reflektiert.

20. Fluoreszenz-Biosensorchip nach einem der Ansprüche 11 bis 19,

bei dem in mindestens einem Bereich der Schaltkreis-Schicht eine Barriere-Schicht aus einem absorbierenden Material

5 vorgesehen ist, derart, dass unterhalb jedes Bereichs zwischen zwei benachbarten Barriere-Schichten jeweils eine Detektions-Einrichtung angeordnet ist, wobei das absorbierende Material derart eingerichtet ist, dass es elektromagnetische Strahlung zumindest des jeweiligen 10 Wellenlängenbereichs bzw. der jeweiligen Wellenlängenbereiche absorbiert oder reflektiert.

21. Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung

- mit einem Fluoreszenz-Biosensorchip, der aufweist

15

- ein Substrat;
- mindestens eine in oder auf dem Substrat angeordnete Detektions-Einrichtung zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung eines ersten Wellenlängenbereichs;

20

- eine auf dem Substrat angeordnete optische Filterschicht zum Absorbieren und/oder Reflektieren von elektromagnetischer Strahlung eines zweiten Wellenlängenbereichs;

- eine auf der optischen Filterschicht angeordnete Immobilisierungs-Schicht zum Immobilisieren von Fängermolekülen;

- wobei die Detektions-Einrichtung, die optische Filterschicht und die Immobilisierungs-Schicht in dem Fluoreszenz-Biosensorchip integriert sind; und

30

- mit einer elektromagnetischen Strahlungsquelle, die derart eingerichtet ist, dass mittels der elektromagnetischen Strahlungsquelle ein Oberflächenbereich des Fluoreszenz-Biosensorchip mit elektromagnetischer Strahlung eines dritten Wellenlängenbereichs bestrahlbar ist.

22. Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung nach Anspruch 21, bei dem die elektromagnetische Strahlungsquelle

- ein Laser
- eine Leuchtdiode
- 5 • eine Gasentladungslampe oder
- eine Glühlampe

ist.

23. Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung nach Anspruch 21 oder 10 22,

bei welcher der Fluoreszenz-Biosensorchip einer Vielzahl von
15 Fängermolekülen aufweist, die mit der Immobilisierungs-
Schicht gekoppelt sind, und die derart eingerichtet sind,
dass an die Fängermoleküle ein zu dem Fängermolekül
komplementäres nachzuweisendes Molekül ankoppelbar ist.

24. Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung nach Anspruch 23,
bei dem die nachzuweisenden Moleküle und/oder die
Fängermoleküle einen Fluoreszenzmarker aufweisen,

- 20 • wobei der Fluoreszenzmarker derart eingerichtet ist,
dass er zumindest teilweise elektromagnetische Strahlung
des dritten Wellenlängenbereichs absorbiert und nach
erfolgter Absorption elektromagnetische Strahlung eines
vierten Wellenlängenbereichs emittiert;
- wobei zumindest ein Teil des dritten
Wellenlängenbereichs außerhalb des vierten
Wellenlängenbereichs liegt;
- wobei zumindest ein Teil des vierten
Wellenlängenbereichs innerhalb des ersten
30 Wellenlängenbereichs liegt.

25. Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung nach Anspruch 21,
die derart eingerichtet ist, dass zumindest ein Teil des
ersten Wellenlängenbereichs außerhalb des zweiten
35 Wellenlängenbereichs liegt.

26. Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung nach einem der Ansprüche 23 bis 25,

bei dem die elektromagnetische Strahlungsquelle derart ausrichtbar ist, dass die von der elektromagnetischen

5 Strahlungsquelle emittierte elektromagnetische Strahlung unter einem vorgebbaren Winkel zur Normalen-Richtung der optischen Filterschicht einfällt.

27. Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung nach einem der

10 Ansprüche 24 bis 26,

bei dem die elektromagnetische Strahlungsquelle derart

) ● eingerichtet ist, dass die von der elektromagnetischen Strahlungsquelle emittierte elektromagnetische Strahlung in Pulsen emittierbar ist, und bei dem die Detektions-

15 Einrichtungen derart eingerichtet sind, dass die von den Fluoreszenzmarkern emittierte elektromagnetische Strahlung in den Zeitintervallen zwischen den Pulsen mittels der Detektions-Einrichtungen detektierbar ist.

Zusammenfassung**Fluoreszenz-Biosensorchip und Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung**

5

Die Erfindung betrifft einen Fluoreszenz-Biosensorchip und eine Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung. Der Fluoreszenz-Biosensorchip weist auf ein Substrat, mindestens eine in oder auf dem Substrat angeordnete Detektions-Einrichtung zum Erfassen von elektromagnetischer Strahlung, eine auf dem Substrat angeordnete optische Filterschicht, eine auf der optischen Filterschicht angeordnete Immobilisierungs-Schicht zum Immobilisieren von Fängermolekülen, wobei die Detektions-Einrichtung, die optische Filterschicht und die Immobilisierungs-Schicht in dem Fluoreszenz-Biosensorchip integriert sind. Die Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung weist einen Fluoreszenz-Biosensorchip und eine elektromagnetische Strahlungsquelle auf.

(Figur 2)

Bezugszeichenliste

- 100 Fluoreszenz-Biosensorchip
- 101 Lichtquelle
- 101a Licht
- 102 Lichtquellenfilter
- 103 Biochip
- 104 Linse
- 105 Sensorfilter
- 106 CCD-Sensoranordnung
- 110 Fluoreszenz-Biosensorchip
 - 111 Lichtquelle
 - 111a Licht
 - 112 optisches Element
 - 113 Lichtquellenfilter
 - 114 Reflektor-Element
 - 115 Probenhalter
 - 116 Kavitäten
 - 117 Sensorfilter
 - 118 Photodetektoren
 - 119 Biochip
 - 200 Fluoreszenz-Biosensorchip
 - 201 Substrat
 - 202 Detektions-Einrichtung
 - 202a Referenz-Detektions-Einrichtung
 - 203 optische Filterschicht
 - 204 Immobilisierungs-Schicht
 - 205 Schaltkreis-Schicht
 - 206 Fängermolekül
 - 207 nachzuweisendes Molekül
 - 208 Fluoreszenzmarker
 - 209 Moleküle
 - 210 Fluoreszenzmarker
 - 211 von Fängermolekülen freier Oberflächenabschnitt
 - 300 Fluoreszenz-Biosensorchip

301 p-dotiertes Silizium-Substrat
302 Detektions-Einrichtung
303 optische Filterschicht
304 integrierte Schaltkreiselemente
304a Siliziumdioxid-Bereich
304b n-dotierter Silizium-Bereich
304c n-dotierter Silizium-Bereich
305 Immobilisierungs-Schicht
306 Schaltkreis-Schicht
306a integrierte Schaltkreiselemente
307 Fänger-Molekül
307a Basen
308 nachzuweisendes Molekül
309 Fluoreszenzmarker
310 elektromagnetische Strahlung eines dritten
Wellenlängen-Bereichs
311 elektromagnetische Strahlung eines vierten
Wellenlängen-Bereichs
500 Fluoreszenz-Biosensorchip
501 p-dotiertes Silizium-Substrat
502 Detektions-Einrichtungen
503 optische Filterschicht
504 Siliziumdioxid-Bereich
505 Immobilisierungs-Schicht
506 Schaltkreis-Schicht
506a integrierte Schaltkreiselemente
507 Fänger-Molekül
507a Basen
508 nachzuweisendes Molekül
508a Basen
509 Fluoreszenzmarker
510 Isolations-Graben
511 absorbierendes Material
512 elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung
513 elektromagnetische Fluoreszenzstrahlung

514 Barriere-Schicht
515 Sensorfeld
516 Sensorfeld
600 Fluoreszenz-Biosensorchip
601 Sensorfeld
601a ausgewähltes Sensorfeld
602 Ansteuerschaltung
603 Zeilenauswahl-Leitungen
603a erste Zeilenauswahl-Leitung
603b zweite Zeilenauswahl-Leitung
603c dritte Zeilenauswahl-Leitung
604 Spaltenauswahl-Leitungen
604a erste Spaltenauswahl-Leitung
604b zweite Spaltenauswahl-Leitung
604c dritte Spaltenauswahl-Leitung
605 Photodiode
606 Pfeile
607a erster Transistor
607b zweiter Transistor
607c dritter Transistor
608 elektrischer Knotenpunkt
609a vierter Transistor
609b fünfter Transistor
609c sechster Transistor
610 Mittel zum Erfassen des elektrischen Stroms
611 Mittel zum Erfassen der elektrischen Spannung
700 Fluoreszenz-Biosensorchip-Anordnung
700a Fluoreszenz-Biosensorchip
701 Substrat
702 Detektions-Einrichtung
703 optische Filterschicht
704 Immobilisierungs-Schicht
705 elektromagnetische Strahlungsquelle
706 Schaltkreis-Schicht
707 Fängermolekül

708 nachzuweisendes Molekül

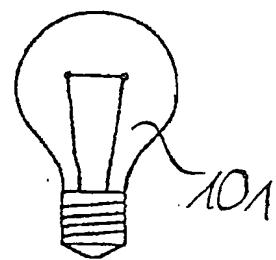
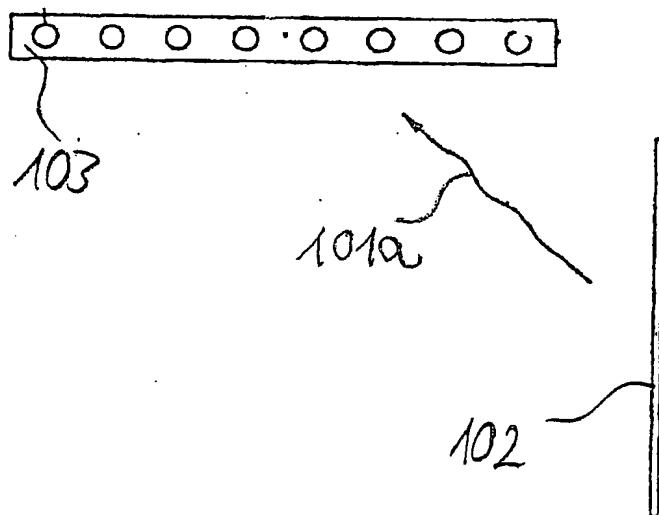
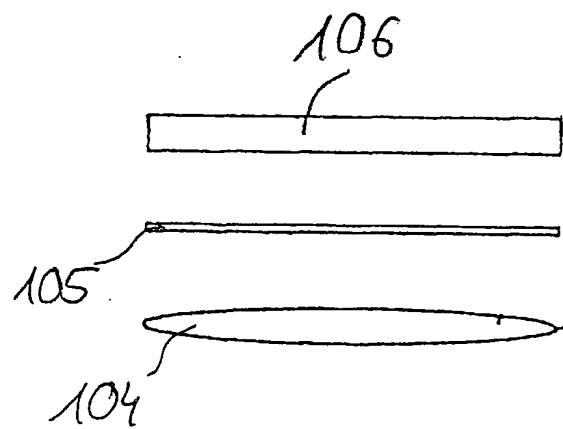
709 Fluoreszenzmarker

710 Moleküle

711 Fluoreszenzmarker

118

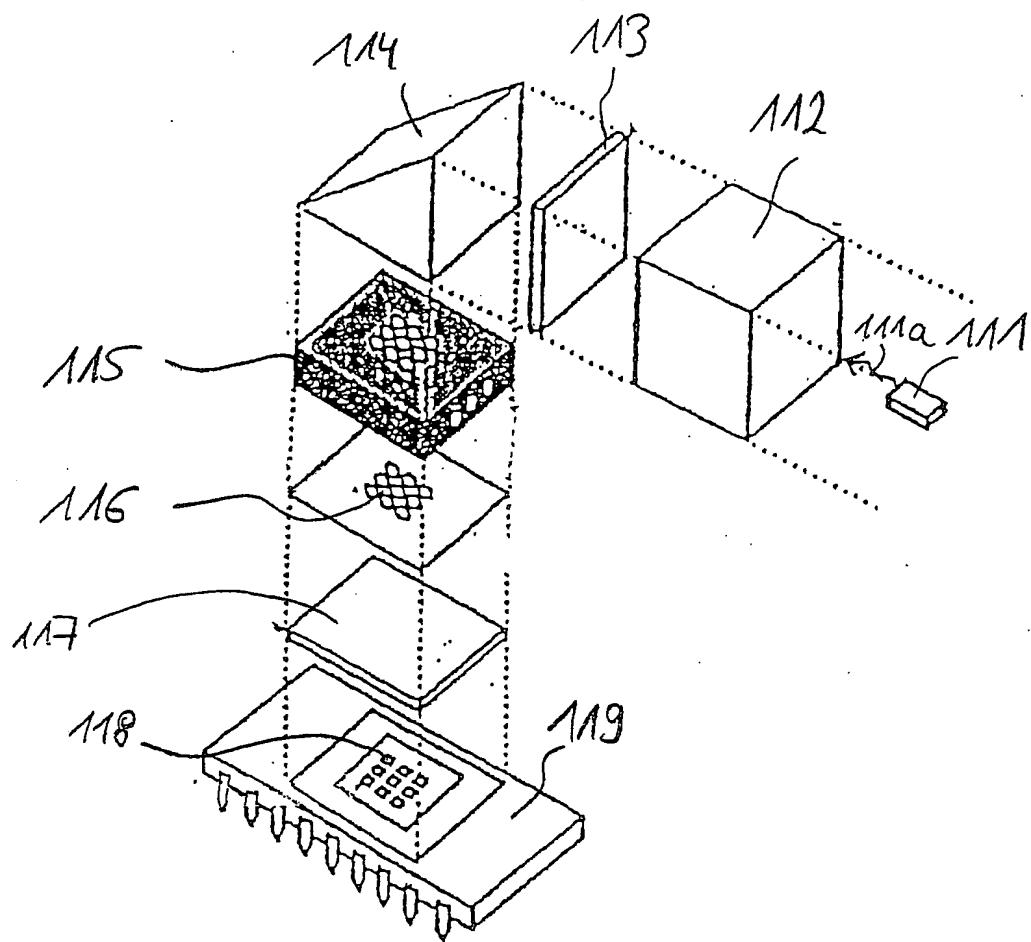
100 ~



Stand der Technik

Fig. 1A

110



Stand der Technik

Fig. 1B

318

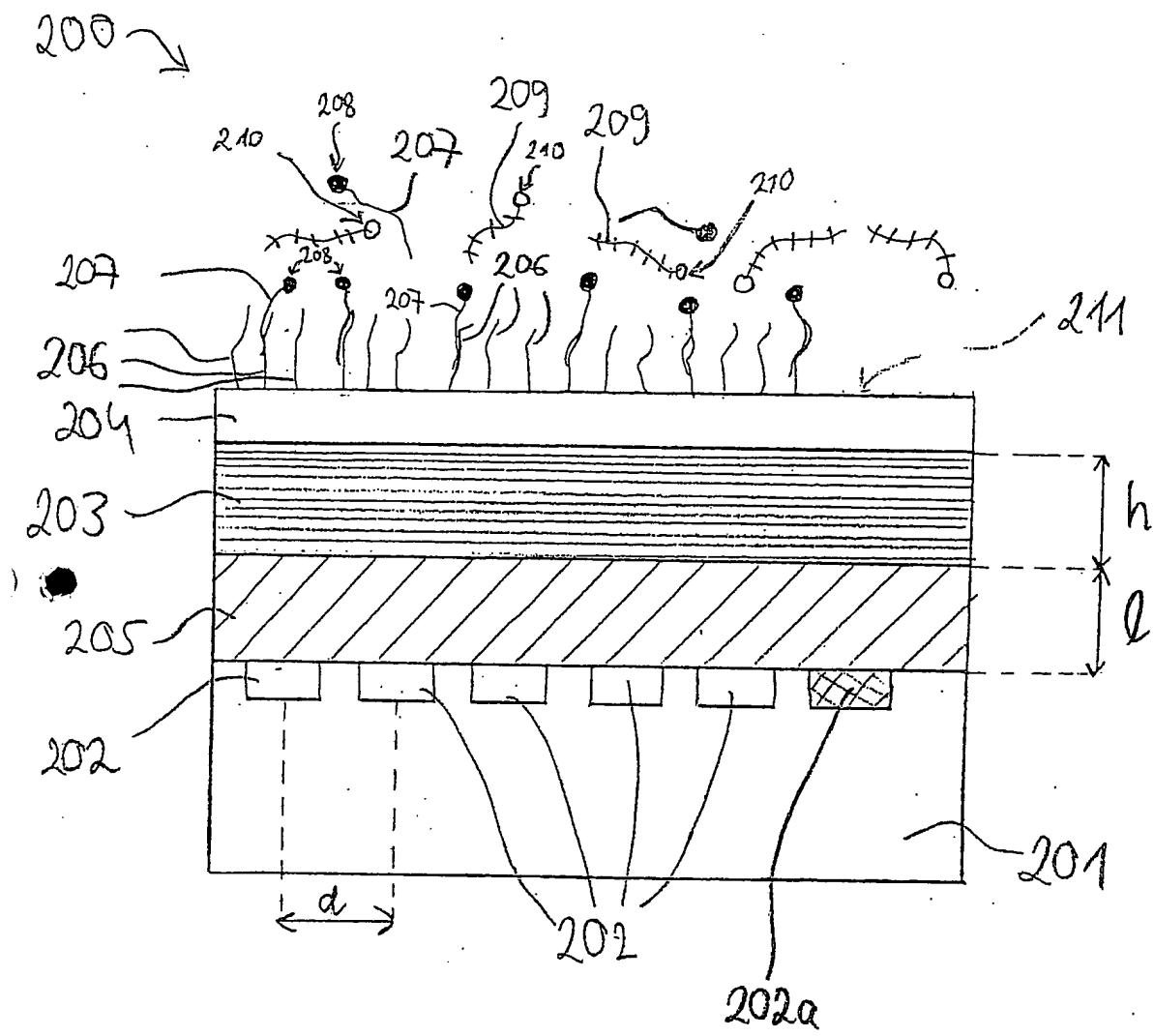


Fig. 2

300 ↗

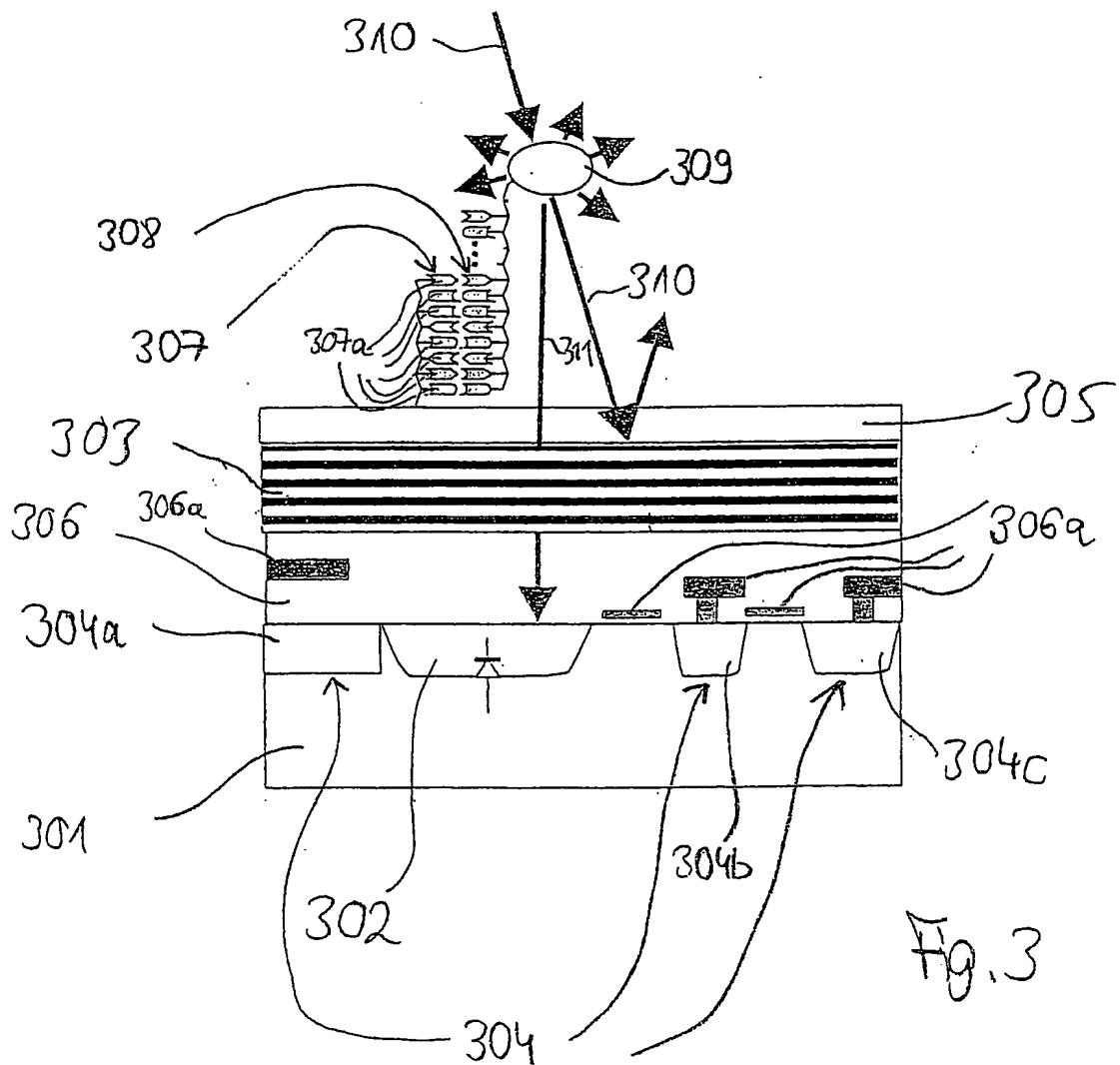


Fig. 3

518

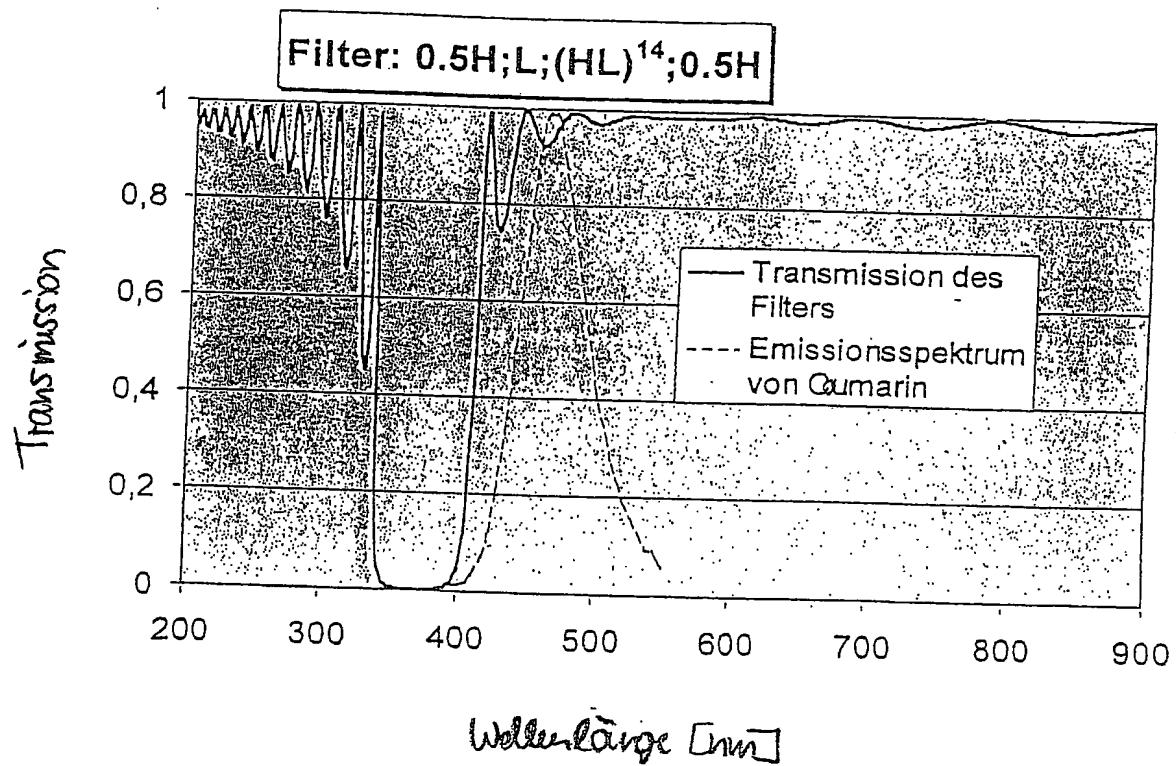


Fig. 4

618

500 ~

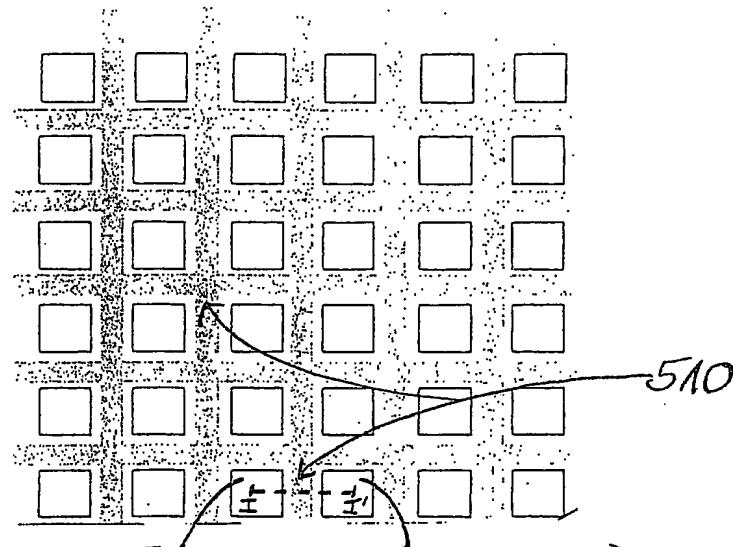


Fig. 5A

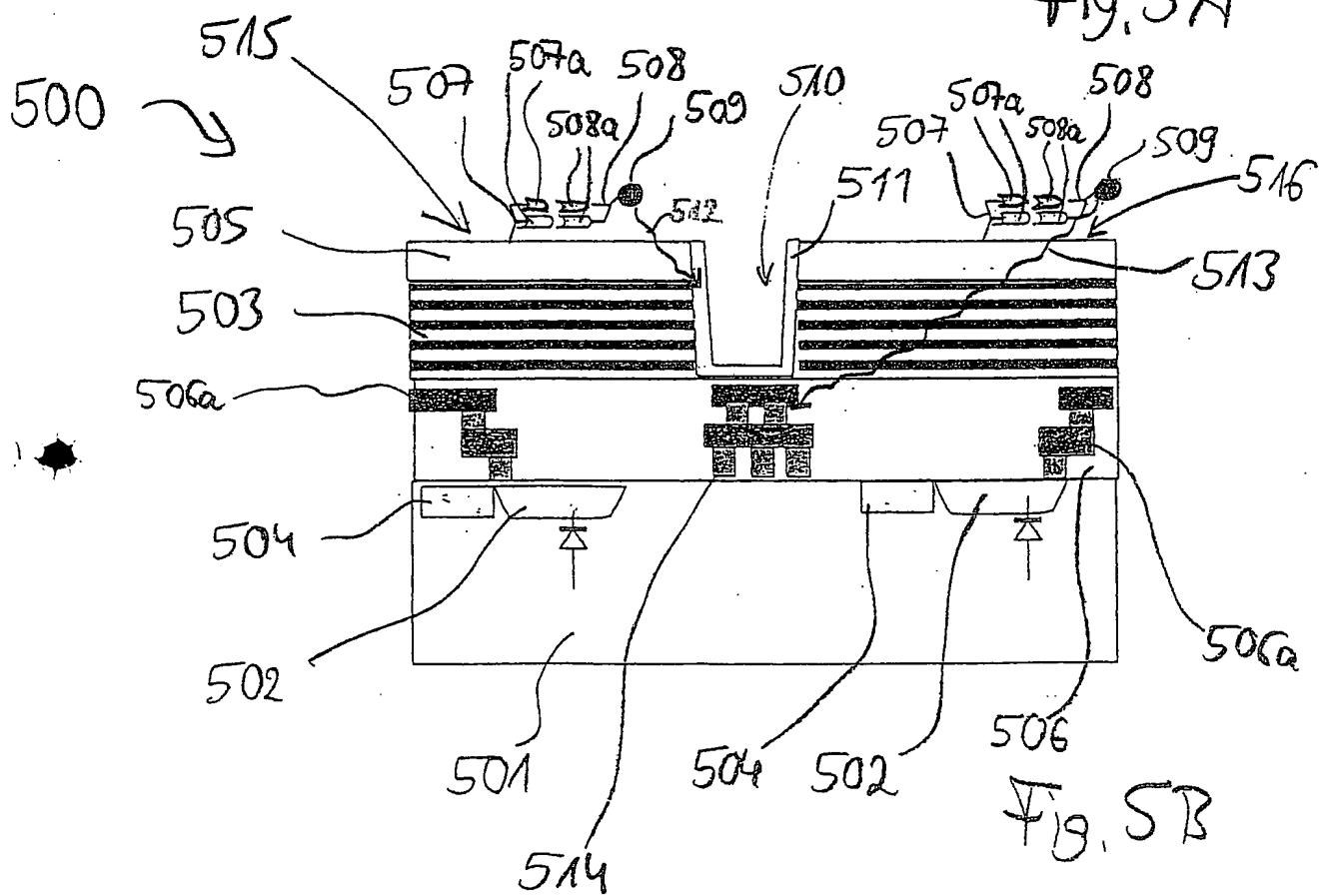
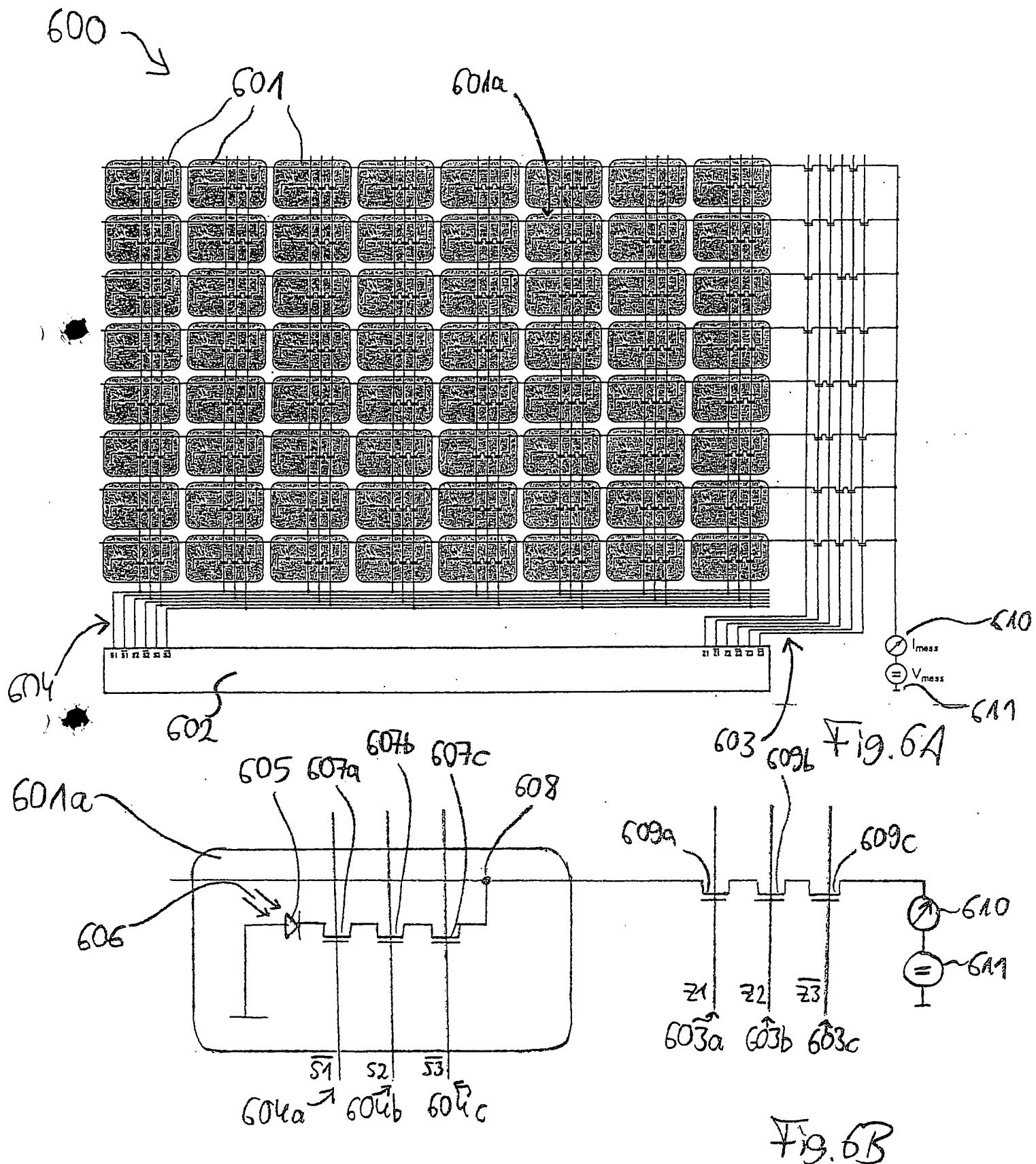


Fig. 5B



818

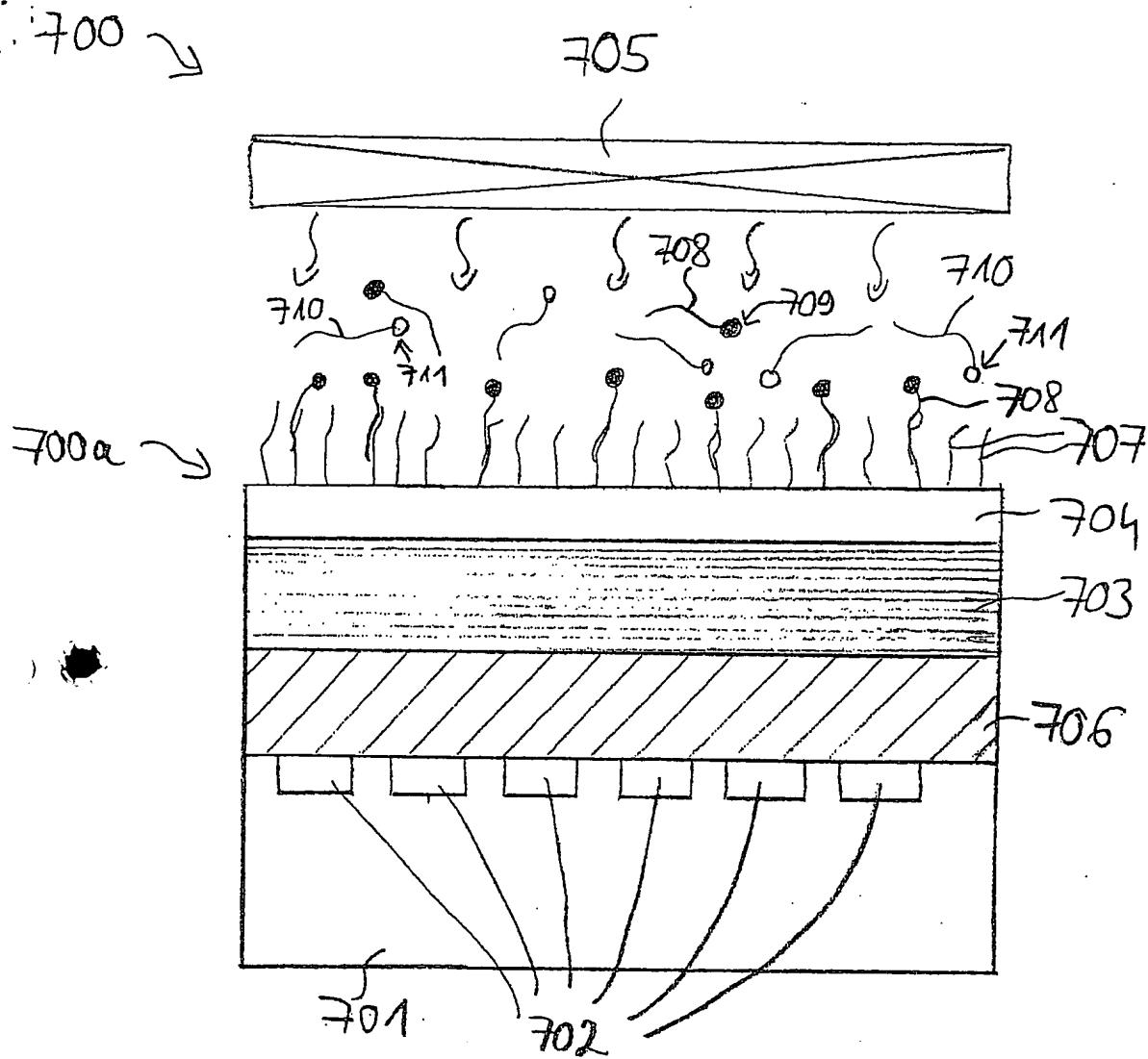


Fig. 7